UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE GLYCYLGLYCIN-DIPEPTIDASE
IN MENSCHLICHEM ENDOMETRIUM
UND ANDEREN ORGANEN

Von Manfred Ortolf

aus Dillingen an der Donau

1958 № 73

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548210_0049

Aus der Universitäts-Frauenklinik Erlangen
Direktor: Professor Dr. med. Rudolf Dyroff

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE GLYCYLGLYCIN-DIPEPTIDASE IN MENSCHLICHEM ENDOMETRIUM UND ANDEREN ORGANEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Vorgelegt von
M a n f r e d O r t o l f
aus
Dillingen an der Donau

Es ist mir ein aufrichtiges Bedürfnis, an dieser Stelle allen zu danken, die zum Gelingen der vorliegenden Untersuchung beigetragen haben, namentlich

Herrn Professor Dr. med. Rudolf D y r o f f für die liebenswürdige Übernahme des Referates,

Herrn Privatdozent Dr. med. Karl F u h r m a n n für die freundliche Überlassung des Themas und die wertvolle Betreuung der Arbeit, sowie

Herrn Dr. phil. Albrecht R e u ß und

Herrn Dr. rer. nat. Robert D i t t m e y e r für den förderlichen Rat bei ihrer Fertigstellung.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

Seite

A) ÜBERBLICK ÜBER BISHERIGE FORSCHUNGEN UND PROBLEMSTELLUNG 5

B) ARBEITSMETHODE 15

C) VERSUCHSERGEBNISSE 19

I. Eigenschaften der Glycylglycinase aus Endometrium 20

1.) Haltbarkeit 20
2.) Abhängigkeit von der Konzentration 21
3.) Abhängigkeit von der Temperatur 25
4.) Abhängigkeit vom p_H-Wert 28
5.) Reaktionsablauf (Kinetik) 31
6.) Aktivatoren und Hemmstoffe 33

II. Fermentaktivität in verschiedenen Endometrien 45

1.) Proliferationsphase 48
2.) Desquamationsphase 52
3.) Sekretionsphase 54
4.) Glandulär-zystische Hyperplasie 60
5.) Maligne Tumoren 62

III. Fermentaktivität in weiteren Geweben 66

1.) Corpus luteum 66
2.) Decidua 66
3.) Placenta 66
4.) Körperflüssigkeiten 67
5.) Leichenorgane 68

D) DISKUSSION 69

E) ZUSAMMENFASSUNG 73

F) LITERATURVERZEICHNIS 75

A) ÜBERBLICK ÜBER BISHERIGE FORSCHUNGEN UND PROBLEMSTELLUNG.

Alle Erscheinungen des Lebens gehen einher mit chemischen Umsetzungen, ja der Stoffwechsel, der ständige Auf- und Abbau der Stoffe im Organismus, gilt als ein Hauptmerkmal der lebenden Wesen. Zustandekommen und Verlauf dieser chemischen Vorgänge aber stehen unter dem Einfluß und der Leitung der Fermente. Wenn fermentative Vorgänge auch bereits seit Jahrtausenden bekannt und nutzbar gemacht sind - man denke nur daran, daß die Worte Ferment und Enzym "Sauerteig" bedeuten - , so beginnt die moderne Fermentforschung doch erst mit BERZELIUS, der die bereits in unglaublich geringen Konzentrationen wirksamen Enzyme als Katalysatoren der lebenden Substanz auffaßte.

Unter den Bausteinen des Organismus erwiesen sich die Eiweißkörper als die funktionell und strukturell wichtigsten; als hochmolekulare Stoffe von sehr kompliziertem Bau sind sie ein Abbild der Fülle und Vielfalt des Lebens. Darum gilt ein besonderes Interesse denjenigen Enzymen, die den Auf-, Um- und Abbau der Eiweiße bewirken. Gerade die größtenteils unbekannte Struktur der natürlichen Proteine erwies sich aber als Schwierigkeit, und deshalb wandte man sich zunächst der enzymatischen Spaltung einfacher Peptide zu. Während früher die eiweißspaltenden Fermente, die Proteasen, in Proteinasen und Peptidasen unterschieden wurden, gebraucht man heute lieber die Bezeichnungen

Endopeptidasen und Exopeptidase, je nach dem Angriffspunkt des Fermentes im Inneren oder am Ende der Peptidkette.

Die hydrolytische Spaltbarkeit einfacher Peptide durch proteolytische Enzyme wurde von FISCHER und ABDERHALDEN [21] wenige Jahre nach der ersten Peptidsynthese nachgewiesen. Jedoch wurde kein Versuch gemacht, spezifische Fermente zu identifizieren. - 1926 fanden v.EULER und JOSEPHSON [17], daß Acylierung der Aminogruppe von Glycylglycin die enzymatische Hydrolyse dieses Dipeptids durch Extrakte von Darmschleimhaut verhinderte. Sie folgerten aus diesem Ergebnis, daß eine freie Aminogruppe für den Angriff des Enzyms nötig ist. Daraus entwickelten sie die Theorie, daß das Ferment sich mit dem Substrat nicht nur an der zu spaltenden Peptidbindung, sondern auch an einem anderen Punkt verbindet.

Später entdeckten GRASSMANN und DYCKERHOFF [26], daß Hefe-Autolysat in zwei Fraktionen geteilt werden konnte, die entweder Dipeptide oder Polypeptide angriffen, aber nicht beide gleichzeitig. Sie nannten diese Komponenten Dipeptidase und Polypeptidase. Da Dipeptidase weder acylierte Dipeptide, noch Polypeptide, noch Aminosäureamide spaltete, schlossen sie, daß das Ferment sowohl eine freie Aminogruppe, als auch eine freie Carboxylgruppe in Nachbarschaft der zu spaltenden Peptidbindung benötigt. Nach BERGMANN u. Mitarb. [11] müssen außerdem die H-Atome in

bestimmter räumlicher Anordnung vorliegen.

WALDSCHMIDT-LEITZ und PURR [84] fanden 1929, daß Pankreasextrakte eine Peptidase enthielten, die acylierte Peptide hydrolysierte, aber eine freie Carboxylgruppe benötigte. Dieses Ferment wurde Carboxypeptidase genannt, um es von der Aminopolypeptidase zu unterscheiden, die eine freie Aminogruppe erforderte. Diese Klassifizierung hat sich bis heute gehalten.

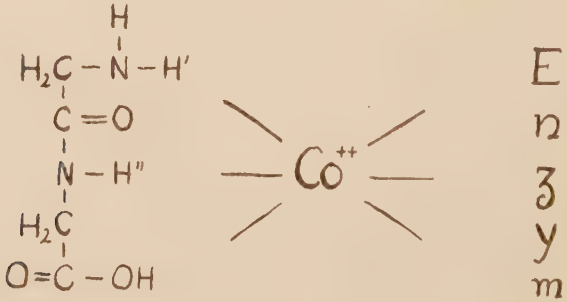
Ursprünglich dachte man sich, daß Dipeptidase alle Arten von Dipeptiden spalte, und in ähnlicher Weise die übrigen Peptidasen ziemlich unspezifisch seien. 1929 zeigte LINDERSTRØM-LANG [42], daß die zwei Dipeptide Leucylglycin und Alanylglycin von verschiedenen Enzymen gespalten werden, die auf der Basis unterschiedlicher Stabilität und p_H-Optima differenziert werden konnten. Leucylpeptidase spaltet Leucylglycylglycin und Leucyldiglycylglycin ebenso wie das Dipeptid. Sie wird deutlich spezifisch aktiviert durch Magnesiumsalze [37) 39) 72]. Die Leucylpeptidase aus Schildkrötenleber wird beträchtlich aktiviert durch das Gift der Schlange Taiwan-habu von Formosa [78]. Substratspezifische Leucylpeptidase wurde in zahlreichen Organen und Organismen, so z.B. in Nieren [73] und in Bact.pyocyaneum [46] nachgewiesen.

Diese Arbeiten warfen bereits Zweifel auf die Existenz einer unspezifischen Dipeptidase. Neuerdings scheint es, daß die meisten Proteasen bestimmte Aminosäuren ebenso benötigen wie bestimmte Gruppierungen im Substrat. So gibt es ja

auch z.B. zellspezifische Proteinasen, die speziell auf bestimmtes Organeiweiß eingestellt sind [2].

1948 veröffentlichte SMITH [67) 68)] seine Arbeiten über die Spezifität der Glycylglycin-spaltenden Dipeptidase. Dieses Ferment scheint keine anderen Peptide anzugreifen. Ein äußerst starker spezifischer Aktivator ist Co^{++}, wenn es auch z.T. durch Mn^{++} ersetzt werden kann. SMITH arbeitete hauptsächlich mit Ferment aus Rattenskelettmuskel, das sich als äußerst labil erwies, während das Enzym aus ebenfalls untersuchtem menschlichem Uterus sich im Kühlschrank gut hielt. Die maximale Haltbarkeit des Ferments aus Rattenmuskel lag bei p_H 7,5; die maximale Aktivität bei p_H 7,6.

Wenn Glycylglycin mit Co^{++} inkubiert wird, entwickelt sich eine rosa Farbe, die viel stärker ist als die von Kobalt allein, oder von Co^{++} und Glykokoll oder Triglycin. Dies wird dadurch erklärt, daß eine spezifische Komplexverbindung gebildet wird, und daß die Funktion des Metallions die ist, als Brücke in der Enzym-Substratsverbindung zu dienen [70]. Die Bindung ist stabil und zeigt nur geringe Tendenz zur Ionisierung [69].



Diese Funktion des Metallions trägt dazu bei, die Spezifität des Ferments zu erklären. Eine Aktivierungszeit von Glycylglycinase und Co^{++} wurde nicht beobachtet; auch Präinkubation von Substrat und Co^{++} bewirkte keine Erhöhung der Aktivität.

In Ergänzung hierzu interessieren die Versuche von SCHWARTZ [61], der nach intraperitonealer Injektion von Kobalt im Zwerchfell der Ratte erhöhte Glycylglycinaseaktivität beobachtete. Diese Aktivierung blieb auch nach Auswaschen des Gewebes erhalten, was für die Hemmung durch Cystein nicht zutraf. Kobalt bleibt also in vivo wie in vitro an das Enzym fixiert.

Im Gegensatz zu obigen Befunden von SMITH fand FLEISHER [22] im menschlichen Blutserum bei Kobaltaktivierung drei Maxima bei p_H 6,2; 6,8 und 8,o. Die drei Aktivitäten zeigten unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber Kobalt. Hohe Co^{++} - Konzentrationen hemmten die Spaltung. Bei Manganaktivierung lag ein einziges Maximum bei p_H 7,4. Diese Befunde deuten auf die Existenz verschiedener Glycylglycin-spaltender Fermente hin.

Im Hinblick auf die Frage, ob Dipeptidase in ihrem chemischen Aufbau auch, wie für zahlreiche andere Fermente nachgewiesen, dem Schema:

"Co-Ferment + Apo-Ferment = Holo-Ferment"

entspricht, sind Untersuchungen an dem Enzym aus Hefe bekannt. GRASSMANN u.M. [30] fanden ein hitzelabiles Protein

(kolloidaler Träger) und einen thermostabilen dialysierbaren Faktor (Co-Dipeptidase). SCHNEIDER [57) 58)] beschreibt, daß Fermentpräparate von Aminopolypeptidase aus Hefe nach Zusatz von Hefekochsaft ein dipeptidspaltendes Ferment enthielten. Dies spricht für die Ergänzung eines Apo-Fermentes durch ein Co-Ferment.

Da ja nach KÖGL und EIXLEBEN [41)] (1939) in malignen Tumoren das Auftreten von d-Aminosäuren charakteristisch ist, erschien es in den folgenden Jahren für das gesamte Krebsproblem wichtig, ob in neoplastischem Gewebe spezifisch d-Peptidasen vorkommen. Diese Vermutung konnte nicht bestätigt werden [4) 10) 23) 46)]. Doch zeigte in neuerer Zeit VESCIA, daß die Aktivität von Peptidase aus normalem Gewebe bei Spaltung von Glycyl-l-leucin [79)] und l-Leucylglycin durch d(+)-Leucin gehemmt, l-Leucylpeptidase aus neoplastischem Gewebe unter gleichen Bedingungen dagegen aktiviert wird [80)]. Untersucht wurde auch die Wirkung des d (+)- und l(-)-Leucins auf das elektrophoretische Verhalten eines teilweise gereinigten Peptidase-Präparates, das aus neoplastischen und normalen Geweben gewonnen wurde. Während die durch das l-Leucin verursachten Veränderungen der elektrophoretischen Mobilität im Falle beider geprüften Gewebe sich analog verhalten, ruft das d-Leucin Veränderungen hervor, die bei normalen und neoplastischen Geweben vollständig entgegengesetzt sind [81)].

Große Hoffnungen in Richtung auf die Frühdiagnose

erweckten die Forschungen von FEINSTEIN und BALLIN, die in den Blutzellen tumortragender Ratten und Kaninchen. im Gegensatz zu denen von normalen Tieren, einen nur äußerst geringen Gehalt an Carboxypeptidase-a-Inhibitor [18] fanden. Nach Implantation eines Walker-Carcinoms verschwand innerhalb einer Woche der Inhibitor fast völlig aus dem Blut der Ratten, drei Tage nach Excision des Tumors war die normale Höhe wieder erreicht [19]. Die klinische Überprüfung am Menschen erbrachte aber nur 64 % positive Resultate bei malignen Tumoren, doch auch zahlreiche positive Ergebnisse bei anderen Krankheiten, insbesondere solchen der Leoer und der inneren Sekretion, sowie bei Lungentuberkulose. Besonders in Anbetracht der 36 % falschen negativen Befunde kann der Test nicht als spezifisches Diagnostikum für Krebs betrachtet werden [6].

Es sei an dieser Stelle auch auf die Befunde von HINSBERG u.Mitarb.[35] hingewiesen, die im Blutserum von Mäusen Di- und Aminopolypeptidasen untersuchten und letztere bei Tieren mit Ascitestumor stark erhöht fanden.

Mit diesen Erörterungen ist bereits der Fragenkomplex "Peptidasen im Blut" angeschnitten worden. Das Vorkommen von Peptidasen, insbesondere Dipeptidase, im Serum von Mensch und Tier ist schon seit langem bekannt [29]. Die Enzyme sind hier besonders an die α_2-Globulinfraktion gebunden [33]. Der Dipeptidasegehalt zeigt individuelle Schwankungen, doch keine nennenswerten Unterschiede

bezüglich Geschlecht und Ernährung [3].

Der Gehalt des Serums an Peptidasen, auch Leucyl- und Aminopeptidase, ist deutlich erhöht bei verschiedenen Krankheiten, insbesondere Knochenbrüchen [74], Infektionen [7], im Blutungsschock [63], bei Leukämie und Krebs [15]. Gleichsinnig erfolgt ein Aktivitätsanstieg in den roten Blutkörperchen bei Infektionen, Entzündungen, Karzinom und lymphatischer Leukämie, eine Erniedrigung bei Agranulozytose und rapid verlaufendem Karzinom [49]. Nach Injektion von artfremdem Eiweiß zeigt sich ein Anstieg von d-Peptidasen in Blutzellen und Serum [50]. Die Aktivität der zelligen Elemente ist höher als die des Serums, die der Leukozyten höher als die der Erythrozyten [76]. Im Widerspruch zu früheren Arbeiten [36] konnte ein sicherer Einfluß von ACTH und Cortison auf die Aktivität der Peptidasen, auch der Glycylglycin-spaltenden Dipeptidase, im Blutserum und in Geweben nicht gefunden werden [12)15)16)59]. Lediglich die Peptidaseaktivität (Substrat AG) der Knochenmarkszellen soll durch ACTH und STH in unterschiedlichem Sinne beeinflußt werden [56].

Im Blutungsschock fand sich, trotz des vermehrten Eiweißabbaus, keine Erhöhung der Glycylglycin-dipeptidaseaktivität des Rattenzwerchfells [62]; die höchste Konzentration erreicht das Ferment im Innern des Organs [60].

Die Aktivität der Glycylglycinase ist in regenerierenden Amphibienschwänzen bis zum Abschluß der Regeneration

vermehrt [52], während die Werte bei regenerierender Rattenleber sehr streuen [51]. In fragmentierten Amöben sinkt die Aktivität innerhalb der ersten drei Tage, um dann konstant zu bleiben [13]. In der durch Parenchymgifte, Gallengangsunterbindung [14] und Eiweißhunger geschädigten Leber [8, 9] ist die Dipeptidasewirkung kaum verändert, desgleichen nicht in Tumoren der Leber [40] und anderer Organe - trotz der starken Eiweißsynthese -, während sie in der Tumornekrose verschwindet [45].

Röntgenbestrahlung des ganzen Körpers führt zu einer Steigerung der Carboxypeptidase-Aktivität in Blutzellen und Organen, vermutlich durch Zerstörung des Carboxypeptidase-a-Inhibitors [20]. UV-Bestrahlung der Carboxypeptidase in vitro veranlaßt Inaktivierung [48], während die Dipeptidase-Aktivität bei UV-Bestrahlung von Mehlwürmern eine Zunahme, bei starken Dosen keine Änderung oder Abnahme erfährt [66].

Der Peptidasengehalt des Liquor cerebrospinalis ist relativ gering, doch wird er stark erhöht bei tuberkulöser und eitriger Meningitis und Contusio cerebri [75].

Wie nicht anders zu erwarten, finden sich Dipeptidasen neben anderen Fermenten reichlich in Drüsensekreten von Magen und Darm [5], aber auch z.B. in Giftdrüsensekreten von Schlangen [24].

Bezüglich der Lokalisation in der Zelle ist das Vorkommen von Glycylglycinase im Zellkern festgestellt [64, 65], doch ist der Gehalt des Cytoplasmas an Peptidasen größer [34, 38].

Mitosegifte haben keinen Einfluß auf die Peptidasen der Zellkerne, außer Stickstofflost im Sinne der Hemmung.

Aus allen diesen Befunden geht klar hervor, daß die Peptidasen eine hervorragende Rolle in allen physiologischen und pathologischen Stoffwechselvorgängen und Gewebsreaktionen spielen müssen, wenn auch die Deutung der Befunde bis jetzt noch nicht in allen Fällen klar ist und manche Frage offen bleibt. Auf Grund der Schwankungen des Peptidasengehaltes unter verschiedenen Bedingungen erhebt sich die Frage, wie es sich hiemit bei dem den stärksten physiologischen Veränderungen unterworfenen Organ des menschlichen Körpers, dem Endometrium, verhält. Erstaunlicherweise liegen hierüber bisher in der Literatur keine Angaben vor. Wohl wiesen HAGERMANN und VILLEE entsprechend dem menstruellen Zyklus Veränderungen in Atmung und Kohlenhydratsstoffwechsel der Uterusschleimhaut nach, die ein Maximum in der frühen Sekretionsphase ergaben [32]. Andere Versuche zeigten einen statistisch signifikanten Anstieg der O_2-Aufnahme bei Zusatz von Oestradiol in vitro [31] und einen Anstieg der Glykogen-Utilisation nach Gabe von Oestradiol bei kastrierten Ratten [82]. Auch zyklische Schwankungen in der Zusammensetzung der Nukleinsäuren des Endometriums wurden beobachtet [25]. Von besonderem Interesse sind hier aber die Arbeiten von J.ROCHE und B.NATAF [55], die mit kastrierten Meerschweinchen arbeiteten und den Peptidasengehalt des Uterus bei unbehandelten Kontrolltieren relativ

niedrig fanden, nach Zufuhr von Oestradiol deutlich erhöht, nach Gabe von Progesteron noch wesentlich stärker erhöht. Die höchsten Werte ließen sich erreichen durch gleichzeitige Gabe von Oestradiol und Progesteron.

Zweck der vorliegenden Arbeit war es, die Glycylglycin-spaltende Dipetidase des menschlichen Endometriums zu untersuchen in ihren Eigenschaften und ihrer Aktivität im Ablauf des mensuellen Zyklus.

B) A R B E I T S M E T H O D E

Wenn nichts anderes angegeben, wurde nach folgendem Schema gearbeitet:

Das Material wurde gewonnen durch Abrasio oder Operation in den Operationsräumen der Univ.-Frauenklinik zu Erlangen. Unmittelbar anschließend - spätestens jedoch innerhalb weniger Stunden nach der Gewinnung des Gewebes - wurde das Endometrium gewogen, in einen Glas-Homogenisator nach POTTER und ELVEHJEM [54] gegeben, mit der neunfachen Menge destillierten Wassers versetzt und homogenisiert, bis keine Gewebsfetzchen mehr sichtbar waren. Aus einer Probe des so gewonnenen 10 %igen Homogenates wurde durch Versetzen mit der neunfachen Volumenmenge 2 %iger Kochsalzlösung eine einprozentige kolloidale Gewebslösung

hergestellt, wie sie zur Durchführung der fermentativen Reaktion benötigt wird; diese erfolgte gewöhnlich noch am Abend des gleichen Tages. Aufbewahrt wurde alles Gewebe stets bei Kühlschranktemperaturen von etwa + 5° C. Wie unten noch näher ausgeführt, erwies sich das untersuchte Ferment als relativ sehr gut haltbar.

Bestimmt wurde die Aktivität des Fermentes nach der Mikromethode von GRASSMANN und HEYDE [27]. Der Versuchsansatz von 2 ml bestand aus 1 ml 1%igem Gewebshomogenat und 1 ml 0,1-molarer Glycylglycin-Lösung (GG von der Firma Hofmann-La Roche) in Sørensen-Phosphatpufferlösung bei einem p_H von 7,2. Dazu kamen noch 0,05 ml Toluol zur Unterdrückung von störendem Bakterienwachstum. Die Reaktion erfolgte bei 37° C in Kölbchen von ca.4 ml, die mit Gummistopfen dicht verschlossen waren.

Zur Feststellung des Leerwertes zu Beginn der Reaktion sowie zur Bestimmung der Zunahme der freien Carboxylgruppen nach 45 und 90 Minuten wurden je drei 0,2 ml-Proben für die Mikrotitration entnommen. Titriert wurde mit n/100 alkoholischer Kalilauge beim Lichte einer 100 W Tageslichtlampe unter Abschirmung aller störenden sonstigen Lichtquellen, wobei 0,1 %ige alkoholische Thymolphthaleinlösung als Indikator diente. Während des Titrierens trat stets eine Trübung durch einen weißen Niederschlag auf. Um den Umschlagspunkt genau feststellen zu können, wurde deshalb die als Vergleichslösung

dienende 1/400-molare ammoniakalische Kupferchloridlösung mit etwas Talkum versetzt und geschüttelt, wodurch eine gleichartige Trübung erreicht wurde. Die Zurückdrängung der Hydrolyse der Aminosäure-Alkalisalze erfolgte durch Zugabe von jeweils 1,8 ml absoluten Alkohol p.a. (Merck). Der Titer der sich unter Luftabschluß befindenden Lauge wurde regelmäßig gegen n/10 HCl geprüft. Nähere Einzelheiten der Bestimmung sind aus der Originalarbeit von GRASSMANN und HEYDE [27] zu entnehmen.

Jeder angegebene Wert ist das Mittel aus drei Titrationen.

Um eine Beziehung zwischen Fermentaktivität und Eiweißgehalt des Gewebes bzw. des Homogenates zu erhalten, wurden Stickstoffbestimmungen nach KJELDAHL durchgeführt. Es wurden vom 10 %igen Homogenat Proben zu je 0,2 ml mit 1,0 ml conc. H_2SO_4 p.a. und Selen-Reaktionsgemisch zur Schnellstickstoffbestimmung nach WIENINGER verascht. [x] Jede Bestimmung wurde doppelt ausgeführt, das Ergebnis ausgedrückt in Milligramm Stickstoff in einem Milliliter des einprozentigen Homogenates.

Die Aktivität der Glycylglycin-spaltenden Dipeptidase wurde gewöhnlich ausgedrückt in Enzymeinheiten (EE). TALLAN, JONES und FRUTON [77] definieren: Eine Enzymeinheit

---

[x] Die KJELDAHL-Titrationen wurden dankenswerterweise ausgeführt von den Chem.Assistentinnen, Frau H.WEICKSEL und Fräulein S.KÖBER.

ist äquivalent derjenigen Menge von Enzym, die in 2 ml Testlösung eine Hydrolyse von 1,00 Prozent pro Minute hervorruft.

Der Berechnung der Enzymeinheiten wurden die experimentell ermittelten Prozent Spaltung zugrunde gelegt; Werte über 30 % wurden berichtigt, wie auf Grund der gefundenen Reaktionskinetik auf S.33 näher ausgeführt ist.

Durch Division des 45-Minuten-Wertes durch 45, sowie des 90-Minuten-Wertes durch 90, und anschließende Mittelung beider Werte wurden die Prozent Abbau pro Minute berechnet, die, da mit Ansätzen zu 2 ml gearbeitet wurde, identisch sind mit den Enzymeinheiten (EE).

Zur Prüfung der Zuverlässigkeit der Methode wurden vom gleichen Endometrium je zehn verschiedene Ansätze hergestellt und je 45 Minuten inkubiert. Dabei wurden folgende Werte, ausgedrückt in Prozent Spaltung, gemessen:

17 17 18 15 15 16 16 17 16 16

Das ergibt bei statistischer Auswertung eine Spaltung von 16,3 $\pm$ 0,95 Prozent; die stärkste Abweichung vom Mittelwert beträgt 1,7 %, die größte Differenz zwischen zwei Werten 3,0 % .

C) V E R S U C H S E R G E B N I S S E .

In Vorversuchen wurde der Einfluß von eventuell störenden Eigenreaktionen der beiden reagierenden Komponenten, des fermenthaltigen Gewebshomogenates und der Substratlösung, untersucht.

Autolyse: Hochaktives Endometrium der Sekretionsphase wurde mit reinem Aqua destillata, ohne Substrat, angesetzt und bei 37° C inkubiert. Nach 13 Stunden konnte keine Vermehrung der freien Carboxylgruppen gefunden werden; somit war also auch keine Autolyse, die die Versuchsergebnisse beeinflussen könnte, aufgetreten.

Nichtfermentative Hydrolyse des Substrates: Das in 0,1 - molarer Konzentration gelöste Substrat Glycylglycin zeigte ohne Zugabe von Ferment nie - auch nicht nach wochenlanger Aufbewahrung unter Toluol im Kühlschrank - irgendeine feststellbare Aciditätszunahme, also auch keine hydrolytische Spaltung .

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die Bestimmung der Fermentaktivität nicht durch unkontrollierbare Spaltungsvorgänge verfälscht wird.

Bei der weiteren Besprechung der Versuchsergebnisse soll zunächst auf die Eigenschaften des Fermentes, sodann auf sein quantitatives Vorkommen in Endometrien verschiedener Zyklusphasen und pathologischer Zustände, und schließlich auf das Auftreten des Enzyms in einigen

weiteren menschlichen Geweben und Sekreten eingegangen sein.

I) EIGENSCHAFTEN DER GLYCYLGLYCIN - SPALTENDEN DIPEPTIDASE AUS ENDOMETRIUM.

1.) Haltbarkeit.

Die Prüfung der Stabilität des Fermentes hatte folgendes Ergebnis:

Untersuchtes Endometrium: H.Nr. 360, Sekretion, Abrasio:

3 Std. nach Entnahme, Aufbewahrungstemperatur + 5° C

45 Min.: 28 % Spaltung
90 Min.: 46 % "
i.e. 0,616 Enzymeinheiten (EE)

Von hier an getrennte Aufbewahrung des Homogenates in drei Portionen:

a) Im Kühlschrank bei + 5° C
12 Std. nach Entnahme

45 Min.: 30 % Spaltung
90 Min.: 53 % "
i.e. 0,694 EE

28 Std. nach Entnahme

45 Min.: 25 % Spaltung
90 Min.: 44 % "
i.e. 0,562 EE

109 Std. = 4 Tage 13 Std. nach Entnahme

45 Min.: 23 % Spaltung
90 Min.: 47 % "
i.e. 0,561 EE

b) Bei Zimmertemperatur von 20° C
13 Std. nach Entnahme

45 Min.: 24 % Spaltung
90 Min.: 42 % "
i.e. 0,528 EE

c) Bei 37° C

13 Std. nach Entnahme

45 Min.: 25 % Spaltung
90 Min.: 41 % "
i.e. 0,533 EE

28 Std. nach Entnahme

45 Min.: 23 % Spaltung

Diese Ergebnisse zeigen, daß während der ersten Stunden nach dem Homogenisieren sogar ein gewisser Anstieg der enzymatischen Aktivität zu verzeichnen ist. Dann erfolgt ein langsamer Abfall, wobei der Unterschied zwischen kühl und warm aufbewahrtem Homogenat erstaunlich gering bleibt. Nach viereinhalb Tagen Aufbewahrung im Kühlschrank sind immer noch 91 % der 3 Std. nach Durchführung der Abrasio gemessenen Enzymeinheiten vorhanden.

2.) Abhängigkeit von der Enzymkonzentration:

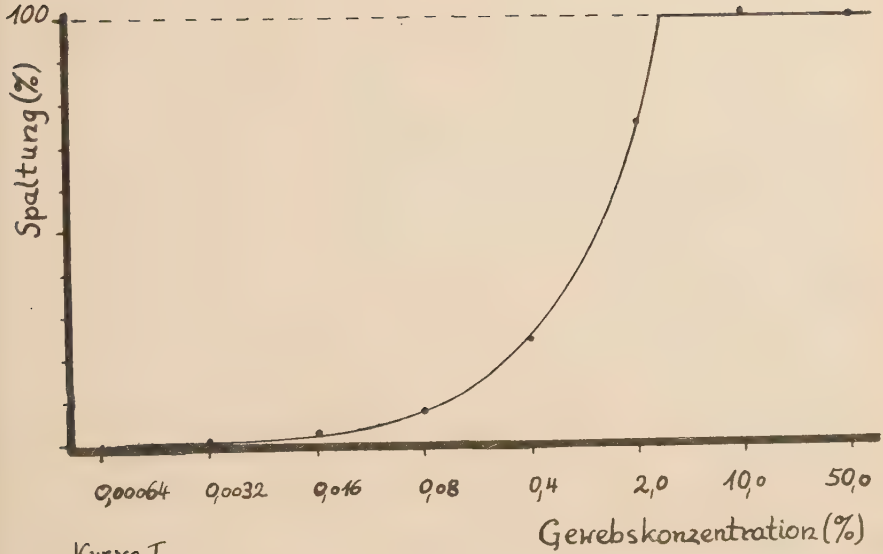
Bei Untersuchung der Abhängigkeit der Spaltung von der Konzentration des Fermentes wurde zur groben Orientierung

zunächst von Enometrium H.Nr. 331 (beginnendes Adeno-Ca) ein 50 %iges Homogenat hergestellt und dieses in logarithmischer Reihe auf jeweils 1/5 der vorausgehenden Konzentration verdünnt. Nach 45 Minuten wurde folgende Spaltung festgestellt:

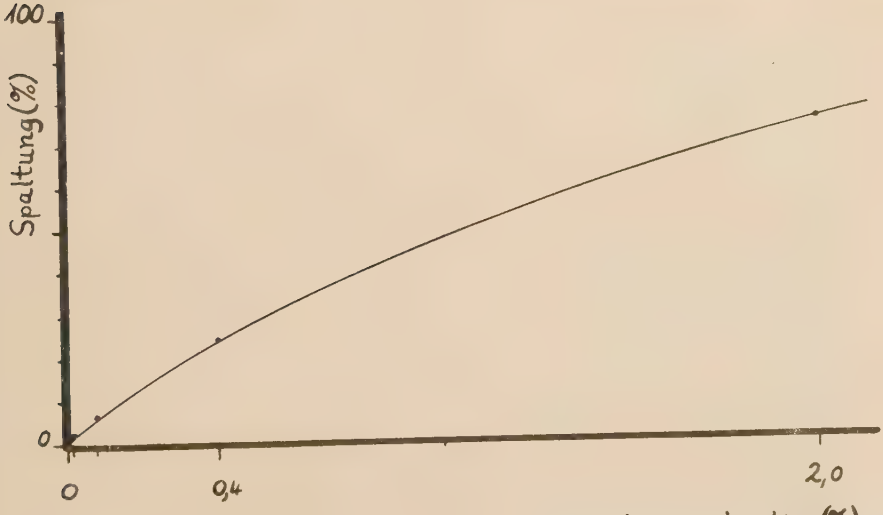
Konzentr. d. Homogenats	Spaltung (%)
50,0 %	100
10,0 %	101
2,0 %	75
0,4 %	24
0,08 %	7
0,016 %	3
0,0032 %	1
0,00064 %	0

In der graphischen Darstellung ergibt sich bei logarithmischer Unterteilung der Abszisse nahezu das Bild einer Hyperbel, die, asymptotisch aus der Abszisse kommend, immer steiler, schließlich fast senkrecht aufsteigt, bis sie natürlicherweise beim Wert "100 % Spaltung" abgeschnitten wird. - Erfolgt die Darstellung des Diagramms nicht logarithmisch, so steigt die Kurve in dem hierbei praktisch erfaßbaren Bereich, aus dem Nullpunkt kommend, in sehr flachem Konvexbogen an. Da der Konzentrationsbereich zwischen 0,4 und 2,0 bzw. 5,0 % näher interessierte, erfolgte folgender zweiter Versuch:

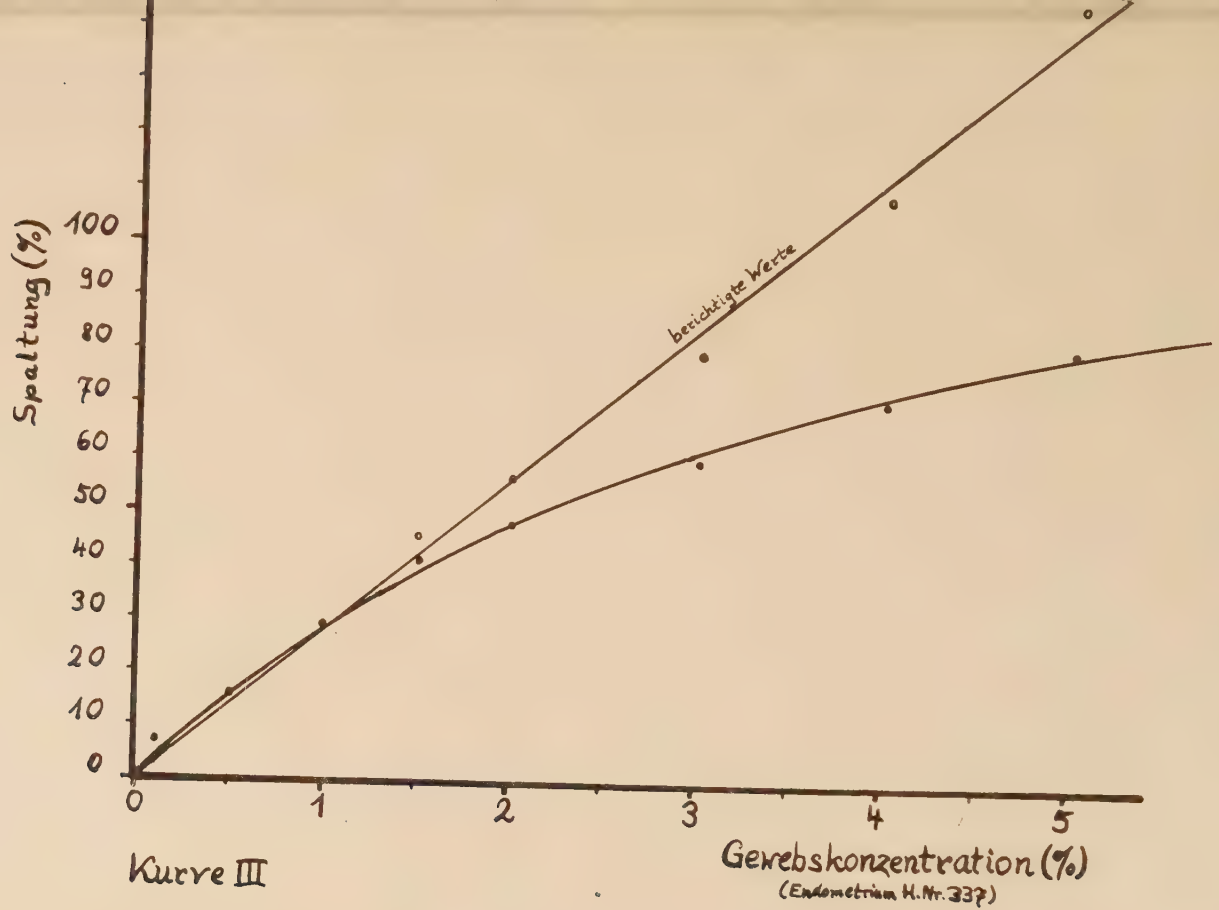
Es wurde Endometrium H.Nr. 337 (Proliferation) verwandt und die Spaltung nach 45 und 90 Minuten bestimmt.



Kurve I



Kurve II


Spaltung (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
1
2
3
4
5
berichtigte Werte
Gewebskonzentration (%)
(Endometrium H.Nr. 337)

Kurve III

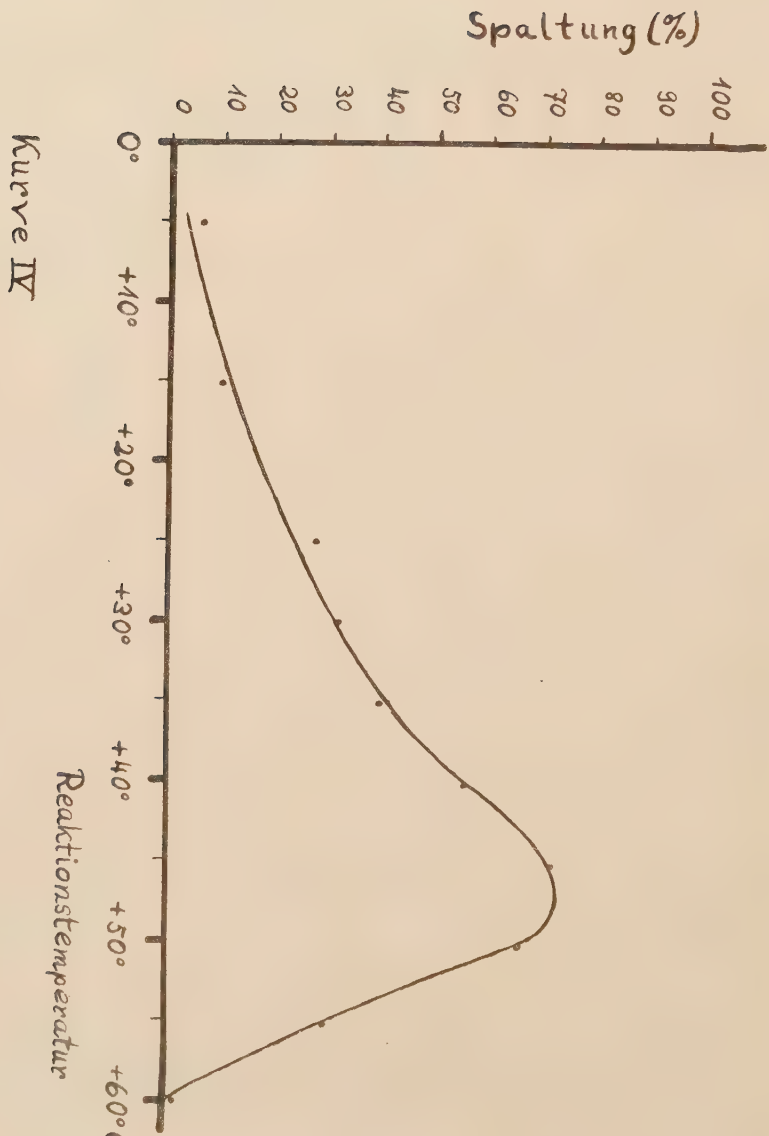
Ergebnisse:

Konz.d.Homogen.	Prozent Spaltung in	
	45'	90'
0,1 %	3	7
0,5 %	9	16
1,0 %	16	29
1,5 %	22	41
2,0 %	28	48
3,0 %	35	60
4,0 %	40	71
5,0 %	44	81

Das Diagramm (Kurve III) zeigt einen aus dem Nullpunkt aufsteigenden geschwungenen Kurvenverlauf. Nach Berichtigung der Werte über 30 % Spaltung (vgl. S.18 u. S.33!) ergiht sich eine Gerade. Das bedeutet, daß die experimentell feststellbare Fermentaktivität direkt proportional ist der Konzentration und damit der Menge des vorhandenen Fermentes. Wenn also bei gleicher Konzentration des Gewebes im Homogenat und gleichbleibenden übrigen Versuchsbedingungen die Aktivität des einen Ansatzes verschieden ist von der eines zweiten Ansatzes von einem anderen Endometrium , so beruht dies auf einem unterschiedlichen Fermentgehalt der Gewebe, wobei sich die Unterschiede direkt proportional verhalten.

3.) Abhängigkeit von der Temperatur.

Zur Prüfung der Abhängigkeit der fermentativen Spaltung von der Temperatur wurde 1 %iges Homogenat von


Kurve IV
Spaltung (%)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0°
+10°
+20°
+30°
+40°
+50°
+60°C
Reaktionstemperatur

Endometrium H.Nr.337 bei verschiedenen Temperaturstufen jeweils 45 Minuten inkubiert. Alle diese Versuche erfolgten unter Beifügung von Kobaltnitrat in einer Konzentration von 0,001 M als Aktivator.

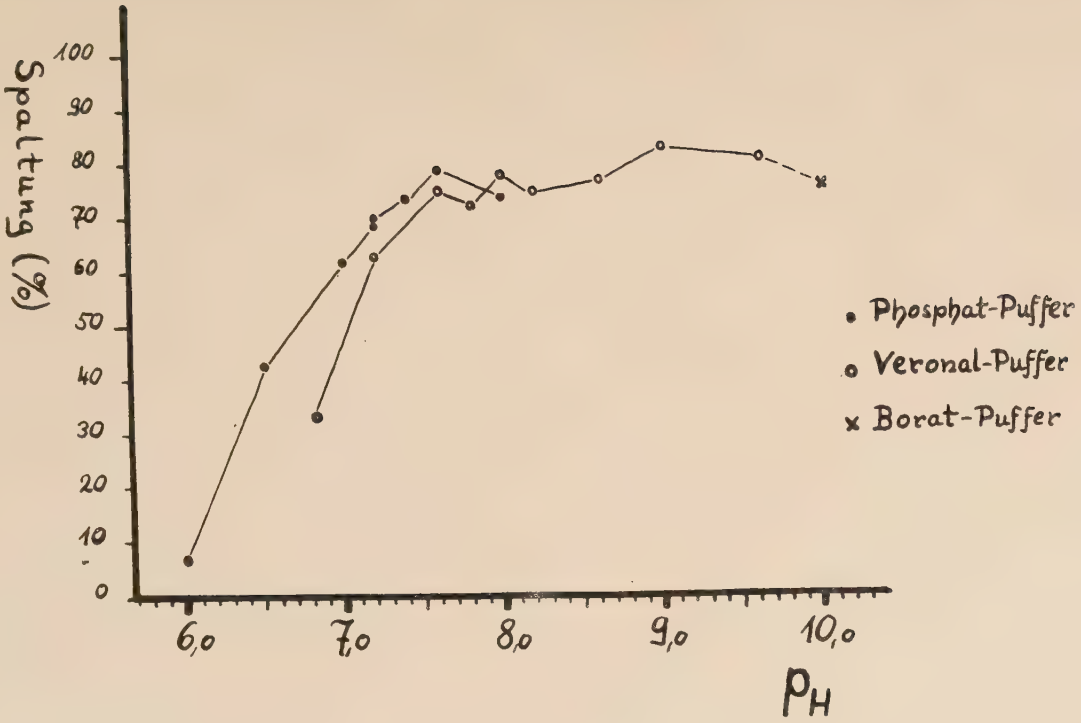
Temperatur	Spaltung (%) in 45'
5°	6
15°	10
25°	28
30°	32
35°	40
40°	56
45°	72
50°	66
55°	30
60°	2

Es zeigt sich mit steigender Temperatur zunächst ein zunehmender Anstieg der Aktivität entsprechend der RGT-Regel; nach einem Maximum bei 45° C fällt sie aber wieder, um bei 60° C praktisch gleich Null zu werden. Auch als der bei 60° inkubiert gewesene Ansatz nochmals bei 45° für 45 Minuten bebrütet wurde, zeigte sich keine Spaltung mehr. Also war das Enzym bei 60° C bereits irreversibel geschädigt.

4.) Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration.

Um die Messung des p_H-Wertes mit der Glaselektrode zu ermöglichen, wurden für jede Bestimmung Ansätze von 10 ml hergestellt, wobei das Substrat Glycylglycin jeweils in einem anderen Puffergemisch gelöst war. Die Spaltung erfolgte in Gegenwart von 0,001 M Kobaltnitrat als Aktivator. Die Hydrolyse wurde nach 45 Minuten bestimmt, sodann erfolgte die Messung des p_H-Wertes durch die Glaselektrode mittels des Philips-p_H-Meßgerätes. In der nachfolgenden Aufstellung findet sich der ursprüngliche p_H-Wert des Puffers (a), der durch Glaselektrode ermittelte p_H-Wert des Ferment-Substratgemisches am Ende der Reaktion (b), sowie die nach 45 Minuten eingetretene Spaltung des Glycylglycin, ausgedrückt in Prozent. - In dem Bereich über p_H 8,0 sind die mit der Glaselektrode gemessenen Werte nicht mehr zuverlässig.

Puffer	p_H		Spaltung(%)
	a	b	
Phosphat-Puffer	6,0	5,83	7
"	6,5	6,28	43
"	7,0	6,78	62
"	7,2	6,97	70
"	7,2	7,01	69
"	7,4	7,19	74
"	7,6	7,32	79


Spaltung (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
pH
• Phosphat-Puffer
o Veronal-Puffer
x Borat-Puffer

Kurve V

Puffer	p_H		Spaltung(%)
	a	b	
Phosphat-Puffer	8,0	7,54	74
Veronal-Puffer	6,8	6,62	33
"	7,2	7,03	63
"	7,6	7,45	75
"	7,8	7,76	72
"	8,0	7,78	78
"	8,2	-	75
"	8,6	-	77
"	9,0	-	83
"	9,6	-	81
Borat-Puffer	10,0	-	76

Nach dem saueren Bereich zu zeigt sich ein steiler Abfall in der fermentativen Aktivität, der bei Veronalpuffer noch steiler zu sein scheint als beim Phosphatpuffer. Bemerkenswerterweise ist aber im alkalischen Bereich noch bei p_H 10,0 kein deutlicher Abfall festzustellen. Die Aktivität liegt hier, mit einigen geringen Schwankungen, stets in ungefähr der gleichen Höhe.

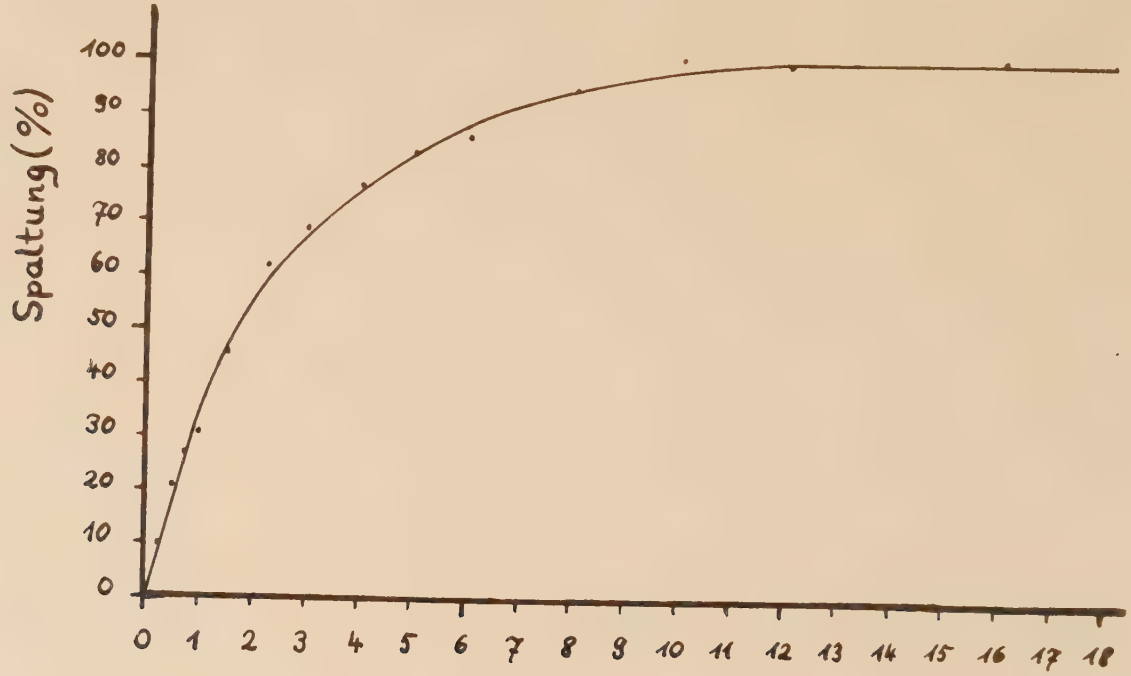
In weiteren Hydrolyseversuchen bei Phosphatpuffer von p_H 7,2 erwies sich der Unterschied der mit Glaselektrode gemessenen p_H-Werte vor der Bebrütung und nach hundertprozentiger Spaltung des Glycylglycin geringer als 0,1 .

5.) Reaktionsablauf (Kinetik).

Anhand von Endometrium H.Nr.351 wurde der zeitliche Ablauf der Spaltung des Glycylglycin über 16 Stunden verfolgt.

Z e i t	Spaltung(%)
0'	0
15'	10
30'	21
45'	27
60'	31
90'	46
$2^h 15'$	62
3^h	69
4^h	77
5^h	83
6^h	86
8^h	95
10^h	101
12^h	100
16^h	101

Der Anstieg des freiwerdenden Glykokolls erfolgt in der ersten Stunde, bis zu etwa 30 % Spaltung, praktisch linear, dann neigt sich die Kurve immer mehr, um schließlich flach bei 100 % Spaltung in die Waagrechte überzugehen.


Spaltung (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
t (Stunden)

Kurve VI

Bei halblogarithmischer Darstellung der oben angegebenen Werte ergibt sich in 1.Annäherung eine Gerade, was bedeutet, daß zu jedem Zeitpunkt der gleiche Prozentsatz der jeweils vorhandenen Substrat-Restmenge R abgebaut wird. (R = A - H; A = Ausgangsmenge, H = abgebaute Menge) Der Proportionalitätsfaktor K, der diesen Prozentsatz bestimmt, ist gleich der Enzymaktivität und stellt gleichzeitig die (praktisch lineare) Anfangssteigung der Kurve VI dar, m.a.W. der Abbau folgt in 1. Annäherung einer e - Funktion ($\frac{H}{A} = e^{-Kt}$).

Da der Abbau nur bis etwa 30 % praktisch linear verläuft, wurden die höheren Werte bei der Berechnung der Enzymeinheiten (vgl.S.18) mit Hilfe obiger Formel berichtigt.

6.) Aktivatoren und Hemmstoffe.

Eine Reihe von anorganischen und organischen Substanzen wurde auf ihre Beeinflussung der fermentativen Aktivität der Glycylglycinase im Sinne der Hemmung oder Aktivierung untersucht. Die Versuchsbedingungen waren stets die gleichen wie bei den übrigen Versuchen, mit dem Unterschied, daß die fragliche Substanz mit im Ansatz vorhanden war, meist in der Konzentration von 0,001 M. Bei dieser Konzentration ist die Aktivierung durch Co^{++}-Ionen am stärksten, wie bereits SMITH [68] festgestellt hat. Es fand sich hier eine Aktivierung auf das Drei- bis Vierfache, d.h. die

Untersuchte Substanz		molare Konzentration
Bezeichnung	Formel	
Kobaltnitrat	$Co(NO_3)_2$	0,001 M 0,001 M 0,001 M
		0,01 M 0,01 M 0,01 M 0,01 M
Manganosulfat	$MnSO_4$	0,001 M 0,001 M 0,001 M 0,001 M 0,001 M
Eisen(II)sulfat	$FeSO_4$	0,001 M
Eisen(III)ammonium-sulfat	$Fe.NH_4(SO_4)_2$	0,001 M
Nickelsulfat	$NiSO_4$	0,001 M

gemessene Spaltung (%)	Vergleichs-wert (%)	Inkubations-zeit	Beurteilung
63	25	45'	
40	12	45'	starke Aktivierung
70	20	45'	
2	18	30'	
6	41	90'	
9	100	$15^{h}30'$	starke Hemmung
7	28	45'	
30	25	45'	
42	28	45'	
18	12	45'	Aktivierung
27	19	45'	
19	12	45'	
27	28	45'	
23	25	45'	
16	25	45'	Hemmung

Untersuchte Substanz		molare Konzentration
Bezeichnung	Formel	
Nickelsulfat	$NiSO_4$	0,002 M
Natriumfluorid	NaF	0,001 M
Kaliumjodid	KJ	0,001 M
Kaliumchromat	K_2CrO_4	0,001 M 0,002 M
Chromalaun	$KCr(SO_4)_2$	0,001 M
Natriummolybdat	Na_2MoO_4	0,002 M
Natriumwolframat	Na_2WO_4	0,001 M
Uranylnitrat	$UO_2(NO_3)_2$	0,001 M
Natriumpyrophosphat	$Na_4P_2O_4$	0,001 M

gemessene Spaltung (%)	Vergleichs-wert (%)	Inkubations-zeit	Beurteilung
9	19	45'	Hemmung
28	28	45'	
30	28	45'	
33 17	28 18	45' 45'	
3	28	45'	starke Hemmung
17	19	45'	
30	28	45'	
9	28	45'	Hemmung
28	28	45'	

Untersuchte Substanz		molare Konzentration
Bezeichnung	Formel	
Arsensäure	H_3AsO_4	0,002 M
Thalliumsulfat	$Tl_2(SO_4)_3$	0,001 M 0,002 M
Calciumchlorid	$CaCl_2$	0,001 M 0,002 M
Magnesiumsulfat	$MgSO_4$	0,001 M 0,001 M 0,001 M 0,002 M
Zinksulfat	$ZnSO_4$	0,001 M
Cadmiumsulfat	$CdSO_4$	0,001 M
Quecksilberchlorid, Sublimat	$HgCl_2$	0,001 M

gemessene Spaltung (%)	Vergleichs-wert (%)	Inkubations-zeit	Beurteilung
17	25	45'	geringe Hemmung
33 21	28 19	45' 45'	
33 17	28 19	45' 45'	
28 26 12 34	28 25 12 28	45' 45' 45' 45'	
12	25	45'	Hemmung
3	28	45'	starke Hemmung
2	28	45'	starke Hemmung

Untersuchte Substanz		molare Konzentration
Bezeichnung	Formel	
Kupfersulfat	$CuSO_4$	0,001 M 0,0001 M
Silbernitrat, Höllenstein	$AgNO_3$	0,001 M
Lithiumsulfat	Li_2SO_4	0,001 M
Natriumoxalat	$Na_2C_2O_4$	0,001 M
Natriumzitrat	$C_3H_4(OH).(COONa)_3$	0,001 M
Chloroform	$CHCl_3$	1 Vol.%
Aethanol	C_2H_5OH	1 Vol.%
Askorbinsäure, Vitamin C	$C_6O_6H_8$	0,001 M
Phenol	C_6H_5OH	0,001 M
Cystein	$HSCH_2.HC(NH_2).COOH$	0,001 M

gemessene Spaltung (%)	Vergleichs-wert (%)	Inkubations-zeit	Beurteilung
0 14	25 19	45' 45'	starke Hemmung
0	28	45'	starke Hemmung
24	25	45'	
31	28	45'	
12	28	45'	Hemmung
12	19	45'	Hemmung
17	19	45'	fast keine Hemmung!
15	19	45'	geringe Hemmung
27	28	45'	
10	28	45'	Hemmung

Untersuchungen an Aceton-

Untersuchte Substanz		molare Konzentration
Bezeichnung	Formel	
Kobaltnitrat	$Co(NO_3)_2$	0,001 M
Nickelsulfat	$NiSO_4$	0,001 M
Eisen(II)sulfat	$FeSO_4$	0,001 M
Manganosulfat	$MnSO_4$	0,001 M
Magnesiumsulfat	$MgSO_4$	0,001 M

Trockenpulver (0,25 %ig)

gemessene Spaltung (%)	Vergleichs-wert (%)	Inkubations-zeit	Beurteilung
95	28	45'	sehr starke Aktivierung
14	28	45'	Hemmung
35	28	45'	schwache Aktivierung
51	28	45'	starke Aktivierung
30	28	45'	fast keine Beeinflussung

stärkste beobachtete Aktivierung überhaupt. Demgegenüber muß bei der zehnfachen Kobaltkonzentration (0,01 M) eine starke Hemmung konstatiert werden. Auch Mangan zeigt eine deutliche Aktivierung, während von den beiden anderen im Periodischen System an gleicher Stelle stehenden Elementen das Nickel sogar deutlich hemmt, das Eisen keinen signifikanten Einfluß zeigt, bzw. bei der Verwendung eines gereinigten Fermentpräparates (Acetontrockenpulver von Endometrium in 0,25 %iger Lösung, vgl.S.42/43) nur gering aktiviert.

Von den Halogenen zeigen Kaliumjodid und das als Fermentgift der Phosphoglukomutase und Enolase bekannte Natriumfluorid keine Wirkung; Natriumchlorid war ohnehin in jedem Homogenat vorhanden.

Sehr stark hemmen eine Reihe von Schwermetallionen, so, außer Nickel, besonders Kupfer, Silber [83], Quecksilber, Cadmium, Zink [68]. Chrom hemmt als III-wertiges Kathion ebenfalls sehr stark, während Chromsäure-Ion ohne Einfluß ist. Deutliche Hemmung tritt auf Zusatz von Uranylnitrat ein.

Das als Aktivator der Leucylpeptidase bekannte Magnesium [37][39][72] zeigt auf Glycylglycinase praktisch keinen Einfluß, ebensowenig Calcium und Lithium.

Pyrophosphat, von GRASSMANN u.Mitarb.[28] als Hemmkörper der Hefe-Dipeptidase beschrieben, ist in der Konzentration von 0,001 M ohne Wirkung auf das Ferment.

Von den organischen Stoffen erwies sich in Übereinstimmung mit den Befunden von GRASSMANN und DYCKERHOFF[26] das Chloroform als hemmend, dsgl.die zu den Thiolen zählende Aminosäure Cystein. Äthylalkohol in der Konzentration von 1 Vol.% hemmt aber nur wenig (vgl.ABDERHALDEN und REICH [1]). Askorbinsäure verursacht geringe Hemmung der Glycylglycin-spaltenden Dipeptidase, während sie ja Kathepsin aktiviert.

Eine deutliche Hemmung wird schließlich auch durch Zitronensäure in Form des Natriumzitrates hervorgerufen.

II. FERMENTAKTIVITÄT IN VERSCHIEDENEN ENDOMETRIEN.

Untersucht wurden 46 Endometrien, davon 17 in der Proliferationsphase, 19 in der Sekretionsphase, eines in der menstruellen Abstoßung, 6 mit glandulär-cystischer Hyperplasie und 3 mit maligner Entartung im Sinne eines Adeno-Carcinoms des Corpus uteri. Die Versuche wurden nach der auf S.15 angegebenen Arbeitsmethode durchgeführt. Ein Aktivator wurde nie verwandt, da sich die Endometrien als ausreichend aktiv erwiesen und so die Aktivität unbeeinflußt, entsprechend der tatsächlich in vivo vorhandenen, festgestellt werden konnte.

In den Tabellen findet sich links in der ersten

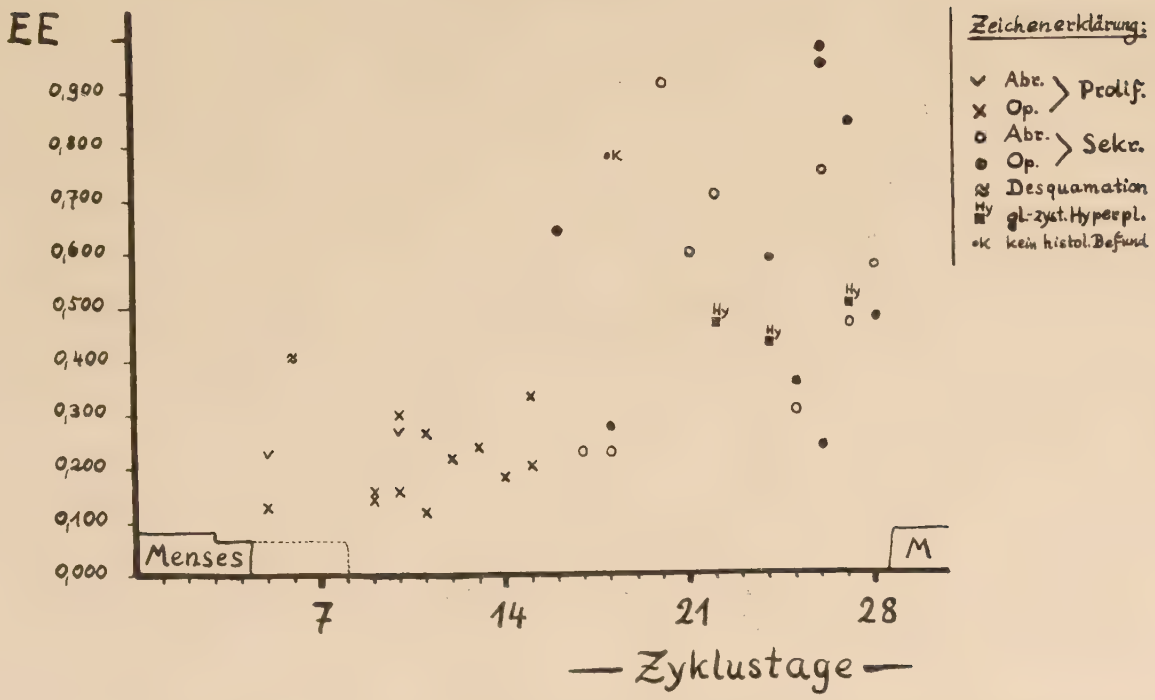
Spalte die Nummer des Endometriums, unter der es im histologischen Labor der Klinik geführt wird; zu ergänzen ist jeweils die Jahreszahl 1956. Dann folgt klinische Diagnose und histologischer Befund. In der vierten Spalte ist das Alter der Patientin angegeben. In der folgenden Spalte steht, auf welche weise das Endometrium gewonnen wurde; "Op." bedeutet durch Operation, also durch Exstirpation des Uterus; "Abr." heißt durch Abrasio, durch Curettage.

Rechts sind in der ersten Spalte die Prozent Hydrolyse nach 45 Minuten angegeben, in der nächsten die Fermentaktivität, ausgedrückt in Enzymeinheiten (EE), sodann der Stickstoffgehalt des Homogenates. Unter "Menstruationsverhältnisse" bedeutet z.B. "28/5-6" = 28-tägiger Zyklus, 5 bis 6 Tage Blutung. Der Zeitpunkt im mensuellen Zyklus wurde, in Ergänzung zum histologischen Befund, an Hand der letzten Periodenblutung bestimmt.

Als wichtigstes Ergebnis geht aus den Versuchen hervor, daß die dipeptidasische Aktivität im Verlauf des Zyklus ansteigt, in der Sekretionsphase höher ist als in der Proliferationsphase.

Die Werte streuen in der Sekretionsphase stärker als in der Proliferationsphase; in der frühen Sekretionsphase fanden sich Endometrien von relativ niedriger Aktivität. Die statistische Erfassung der Aktivität, in Enzymeinheiten (EE) und unter gleichzeitiger Berücksichtigung des Stickstoffgehaltes des Gewebes (EE/N)

Aktivität der Endometrien mit genau feststellbarem Zyklustag



1.) PROLIFERATIONS-

H.Nr.	Klinische Diagnose	Histolog.Befund und Diagnose	Alter	Gew.
337	Cervixpolyp, Verdacht auf Endometriose	Späte Prolif. - Ausgedehnte Uterus-endometriose.	40	Op.
490	Uterus myomat., Endometriose	Prolif.Endometrium, hochgeschichtet, oedematös. - Myom, Endometriosis interna - externa.	42	Op.
508	Menorrhagien	Frühe Proliferation, einzelne Lympho-zyteneinsprengungen.	51	Abr.
522	Klimakterische Blutungen	Frühe Prolif.,verdicktes Oberflächen-epithel mit basaler Hyperaktivität.	46	Abr.
615	Uterus myomat.	Abgeblutetes prolif. Endometrium mit oberflächl.Abstoßung. - Gartner'sche Gang-zyste d.Cervix.	44	Op.
712	Uterus myomat., Endometriose	Frühe Proliferation.- Ut.my.;älteres entzündl.Adnexkonglomerat; endometroide Ovarialzysten.	36	Op.

PHASE (I)

Sp.(%) in 45'	EE	N(mg)	EE/N	Menstr.	Zyklus-tag
15	0,335	0,134	2,5	28/8 stark	15.
14	0,303	0,176	1,9	28/2	10.
12	0,228	0,193	1,2	28/8	5.
12	0,267	0,212	1,3	28/7	10.
13	0,228	0,175	1,3	21-56/8	? Dauerbl. seit 2 Monaten
6	0,152	0,153	1,0	28/5	9.

1.) PROLIFERATIONS-

H.Nr.	Klinische Diagnose	Histolog.Befund und Diagnose	Alter	Gew.
773	Uterus myomat.	Prolif.,eben beginnende Drüsenschlängelung. - Ut.my. mit nekrot.Myomknoten.	36	Op.
781	Menorrhagien	Prolif.,Drüsen geschlängelt. - Mäßig vergrößerter Uterus.	35	Op.
787	Ut.my.,Endometriose,klimakter. Blutungsstörungen	Starke Prolif. - Utmy.,bds.Zustand nach Salpingitis,Pelveosalpingitis,Ovarialabszeß re.	45	Op.
789	Uterus myomat.	Proliferation. - Ut.my.,Leukoplakieherde an der Portio.	42	Op.
792	Adnextumor	Proliferierendes Endometrium,kein Anhalt für Gravidität.	29	Abr.
793	Meno-Metrorrhagien	normales Endometrium vom Ende der Proliferation.	22	Abr.

PHASE (II)

Sp.(%) in 45'	EE	N(mg)	EE/N	Menstr.	Zyklus-tag
11	0,214	0,169	1,3	21/3 schwach	12.
9	0,184	0,165	1,1	28/5 stark	14.
12	0,236	0,165	1,4	27/3-4 stark	13.
11	0,204	0,127	1,6	28/5-8	15.
16	0,314	0,234	1,3	28/4 stark	? unregelm. Bl.bis z. Abr.
5	0,115	0,148	0,8	21-28/ 8-21	? unregelm.

1.) PROLIFERATIONS-

H.Nr.	Klinische Diagnose	Histolog.Befund und Diagnose	Alter	Gew.
846	Ovarialzyste	Frühe Prolif. - Endometriosezysten im Ovar,Endometrioseherde in der Tube.	45	Op.
850	Endometriose	Proliferation,etwas irregulär. - Ausgedehnte Endometriose.	46	Op.
931	Collum-Carcinom	Prolif.,Mitte bis Ende. - Nichtverhorn. Plattenepithel-Ca. (vgl."Maligne Tumoren")	23	Op.
1060	Uterus myomat.	Prolif.mit basaler Hyperplasie. - Uterus myomatosus.	47	Op.
1121	Uterus myomat.	Prolif.,drüsenarm.- Ut.my.,zystische Follikel im Ovar.	37	Op.

2.) DESQUAMATIONS-

584	Uterus myomat.	Schleimhaut vom Ende der Menstruation,teilweise Abstoßung und beginnende Prolif., Endometritis.	51	Op.

PHASE (III)

Sp.(%) in 45'	EE	N(mg)	EE/N	Menstr.	Zyklus-tag
7	0,138	0,169	0,8	21-25/ 4-5 stark	9.
9	0,160	0,188	0,9	21-28/ 4-5	10.
6	0,119	0,216	0,6	28/2-3	11.
12	0,272	0,178	1,5	21-28/4	11.
6	0,127	0,172	0,7	21/3-5	5.

PHASE

19	0,411	0,224	1,8	28/8 zuletzt unregelm.	6.

3.) SEKRETIONS-

H.Nr.	Klinische Diagnose	Histolog. Befund und Diagnose	Alter	Gew.
360	Descensus,Cervix-polyp,Erosion	Sezernierendes Endo-metrium. - Pseudoerosion.	33	Abr.
377	Collum-Carcinom	Prämenstruelles Endo-metrium. - Platten-epithel-Ca.,auf den Cervicalkanal be-schränkt.	41	Op.
479	Uterus myomat.	Sez.Endom.mit oberfl. Abstoßung,Lympho- u. Leukozyteninfiltration - Ut.my.	47	Op.
493	Uterus myomat.	Fibromyom;im Schnitt über dem Myom sind keine Drüsen vor-handen.	37	Op.
494	Uterus myomat.	Späte Sekretions-phase. - Ut.my.	51	Op.
509	Colpitis; Uterus metriticus?	Hyperplast.Endom.d. Sekretion,Epithel-strukt.w.b.d.Früh-gravid.,schwere chron.Endometritis.	39	Abr.
521	Cervixpolyp, Dysmenorrhoe	Mittlere Sekretions-phase. - Chron.ent-zündl.Cervixpolyp.	46	Abr.

PHASE (I)

Sp.(%) in 45'	EE	N(mg)	EE/N	Menstr.	Zyklus-tag
30	0,750	0,197	3,8	21-28/ 5-7 schwach	26.
25	0,594	0,150	4,0	28/3-8	24.
37	0,955	0,264	3,6	28/3-4	26.
33	0,783	0,120	6,5	26-28/ 6-7	18.
36	0,845	0,176	4,8	(Früher:) (30/5) J.bis zu 80/12 unregelm.	41.
27	0,577	0,223	2,6	25-28/4	28.
28	0,600	0,137	4,4	28/5-6	21.

3.) SEKRETIONS-

H.Nr.	Klinische Diagnose	Histolog.Befund und Diagnose	Alter	Gew.
526	Polyp	Sezern.Endom. - Unverdächtiger drüsiger Cervixpolyp.	39	Abr.
548	Uterus myomat.	Beginnende Sekret. (frisch geplatzter Follikel im linken Ovar) - Fibromyom.	43	Op.
577	Klimakterische Blutungen, Ut.my.	Irreguläres Endom. der Sekretion.	46	Abr.
623	Scheidentumor	Beginnende Sekret.- Scheidenmyom.	34	Abr.
688	Verdacht auf Genital-Tuberkulose	Prämenstruelles Endometrium,für Tbc.kein Anhaltspunkt.	35	Abr.
699	Uterus myomat.	Prämenstruelles E.- Ut.my.,Ovarialendometriose bds., Teerzystenbildung.	48	Op.

PHASE (II)

Sp.(%) in 45'	EE	N(mg)	EE/N	Menstr.	Zyklus-tag
16	0,313	0,166	1,9	30/4	25.
29	0,639	0,188	3,4	21/4-5	16.
31	0,706	0,177	4,0	28/4-5	22.(?)
12	0,234	0,133	1,8	28/8 stark	17.
22	0,472	0,182	2,6	21-28/5	27.
38	0,983	0,142	6,9	28/4-5	26.

3.) SEKRETIONS-

H.Nr.	Klinische Diagnose	Histol.Befund und Diagnose	Alter	Gew.
705	Uterus myomat., Endometriose	Norm.sez.Endom. (neben beginn.Corpus-Ca.,vgl."Maligne Tumoren"). - Zellreiches Myom.	47	Op.
790	Polyp	Geringe Sekretion (innersekretor.Störung?). - Drüsiger Polyp.	44	Abr.
798	Dauerblutung	Drüsenreiches Endom. d.Sekret.,Stroma mit beginn.großzell. Umwandlung.-Drüsig. Polyp m.chron.Entz.	42	Abr.
839	Uterus myomat.	Prämenstruelles E. - Fibromyom,kleinzyst. Degeneration des Ovars.	34	Op.
845	Endometriose	Prämenstruelles E. - Retrocervikale Endometriose.	35	Op.
942	Uterus myomat.	Sekretion,prämenstr. Schrumpfung (Ovarialinsuffizienz?) - Ut.my.	40	Op.

PHASE (III)

Sp.(%) in 45'	EE	N(mg)	EE/N	Menstr.	Zyklus-tag
15	0,283	0,132	2,1	21-28/4	18.
12	0,233	0,117	1,5	(Früher:) (28/5) Jetzt: ca.24/5 unregelm.	18.
42	0,917	0,174	5,3	26-28/3	20.(?)
16 (21) 26	0,372 (0,483) 0,594	0,158 -	2,4 Obere - Tiefe	31-36/6	28.
16	0,357	0,149	2,4	30/4-5	25.
12	0,239	0,153	1,6	28/8	26.

4.) GLANDULÄR-ZYSTISCHE

H.Nr.	Klinische Diagnose	Histolog.Befund und Diagnose	Alter	Gew.
351	Ovarialtumor re.	Schleimhaut prolif. mit cyst.Erweiterung der Drüsen. - Solides Ovarial-Ca.	43	Op.
399	Ut.my.?	Hyperplast.Endom.mit verstärkter Follikelwirkung,Gelbkörperreaktion nirgends nachweisbar.	42	Abr.
400	Ut.my.,klimakter. Menorrhagie	Gland.-zyst.Hyperplasie. - Adenomyosis interna.	46	Op.
625	Uterus myomat.	Kräftige Prolif., stellenweise gland.-zyst.Hyperplasie. - Fibromyom.	48	Op.
686	Collum-Carcinom	Prolif.,stellenweise gland.-zyst.Hyperplasie. - Nichtverhorn. Plattenepithel-Ca.	31	Op.
727	Uterus myomat.	Prolif.,mäßige Hyperplasie. - Myom;gland.-zyst.Pseudoerosion der Portio.	49	Op.

HYPERPLASIE

Sp.(%) in 45'	EE	N(mg)	EE/N	Menstr.	Zyklus-tag
28	0,605	0,149	4,1	(28/6) Menop. m.39J.	?
21	0,433	0,237	1,8	28/2	? zuletzt unregelm.
26	0,533	0,175	3,0	28/6-7	? zuletzt unregelm.
23	0,433	0,191	2,3	28/4-5	24.
25	0,505	0,149	3,4	28/8	27.
22	0,472	0,177	2,7	28/4-5	22.

5.) MALIGNE

H.Nr.	Klinische Diagnose	Histolog.Befund und Diagnose	Alter	Gew.
403	Ovarial-Tumor beiderseits	Adeno-Ca.des Corpus uteri,ob primär oder sekundär nicht sicher zu entscheiden.	51	Op.
442	Corpus-Ca. mit Ovarial-Metastase	Typisches hochdiff. Adeno-Ca.des Corp. uteri.	60	Op.
705	Ut.my., Endometriose	Adeno-Ca.a.d.Ut.-Hinterwand als derb. papill.Tu.;normale Schleimhaut im übrigen Cavum.	47	Op.
534	Uterus myomat.	Myosarkom.	38	Op.
931	Collum-Carcinom	Nichtverhornendes Plattenepithel-Ca. mit starker Zell- und Kern-Polymorphie.	23	Op.

TUMOREN

Sp.(%) in 45'	EE	N(mg)	EE/N	Menstr. u.Zykl. tag	Bemerk.
25	0,533	0,176	3,0	(28/2-3) Seit 3 Monaten keine Blutung	
20	0,372	0,130	2,9	(27/3) mit 48 Jahren Menopause	
39	0,933	0,194	4,8	21-28/ 3-4 18.Tag	vgl.: "Sekret." und "Corp. lut."
8	0,166	0,368	0,5	25/7 7.Tag	
2	0,033	0,259	0,1	28/3 11.Tag	vgl.: "Prolif."

ergab folgendes:

Proliferation:

$0{,}223 \pm 0{,}067$ EE; $\sigma_m = 0{,}016$ EE

oder:

$1{,}3 \pm 0{,}5$ EE/N; $\sigma_m = 0{,}1$ EE/N

Sekretion:

$0{,}576 \pm 0{,}257$ EE; $\sigma_m = 0{,}059$ EE

oder:

$3{,}5 \pm 1{,}6$ EE/N; $\sigma_m = 0{,}4$ EE/N

Eine Zählung ist statistisch gesichert verschieden, wenn ihr Mittelwert mehr als den dreifachen Betrag des mittleren Fehlers des Mittelwertes (σ_m) von dem Mittelwert der anderen Zählung entfernt ist. Diese Forderung ist für die Werte aus Proliferations- und Sekretionsphase um ein Vielfaches erfüllt.

Interessant ist Endometrium H.Nr.584 vom 6.Tag bei einem Zyklus von 28/8 Tagen. Die alte Functionalis ist noch z.T. vorhanden, in der Desquamation begriffen; dementsprechend liegt die Aktivität höher als bei proliferierender Schleimhaut. Auch bei Endometrium H.Nr.508 ist die Menstruationsblutung noch nicht zu Ende, während bei H.Nr.1121 die Menstruation bereits abgeschlossen ist. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen läßt sich von den proliferierenden Endometrien noch eine eigene postmentruelle Gruppe der "frühen Proliferation" mit besonders niedrigen Aktivitätswerten abtrennen (H.Nr.1121; 712; 846; 850).

Die Endometrien mit glandulär-zystischer Hyperplasie zeigen eine deutlich erhöhte Aktivität gegenüber denen der Proliferationsphase.

Gl.-zyst.Hyperplasie:

$0{,}495 \pm 0{,}069$ EE; $\sigma_m = 0{,}028$ EE

oder:

$2{,}9 \pm 0{,}8$ EE/N; $\sigma_m = 0{,}3$ EE/N

Bei den untersuchten malignen Tumoren ist auffällig, daß die aus Endometrium hervorgegangenen Adenocarcinome des Corpus uteri eine hohe Fermentaktivität zeigen ($0{,}610 \pm 0{,}288$ EE; oder: $3{,}6 \pm 1{,}1$ EE/N), während ein Myosarkom des Uterus und ein nichtverhornendes Plattenepithelcarcinom der Portio nur sehr geringe Aktivität entwickeln. In den Fällen H.Nr.705 und 931, wo von der gleichen Patientin histologisch normales Endometrium und maligner Tumor des Uterus untersucht werden konnten, erweisen sich die Endometrien als relativ wenig aktiv. Der Stickstoffgehalt der Tumoren ist meist ziemlich hoch, z.T. sogar auffällig hoch, namentlich bei den beiden eben erwähnten Tumoren von geringer enzymatischer Aktivität.

III) FERMENTAKTIVITÄT IN WEITEREN GEWEBEN.

1.) Corpus luteum.

	Sp.(%) in 45'	EE	N(mg)	EE/N
Frisch gesprung. Follikel, 16.Tag	7	0,115	0,196	0,6
C.lut.menstr., 18.Tag (H.Nr.705!)	6	0,163	0,153	1,1
C.lut.menstr., 21.Tag	10	0,203	0,168	1,2
C.lut.menstr., 26.Tag	6	0,147	0,109	1,4
C.lut.graviditat., Mens I - II	19	0,388	0,185	2,1

2.) Decidua.

	Sp.(%) in 45'	EE	N(mg)	EE/N
Decidua, Mens II, mit Blut	11	0,230	0,189	1,2

3.) Placenta.

	Sp.(%) in 45'	EE	N(mg)	EE/N
Pl., Mens I - II Extrauteringrav.	9	0,208	0,103	1,2
Pl., Mens II	8	0,167	0,111	1,5
Pl., Mens IV - V	7	0,143	0,148	1,0
Pl., Mens X, von norm. Geburt	3	0,089	0,304	0,2

4.) Körperflüssigkeiten.

Untersuchtes Material	Inkub. zeit	Sp.(%)
Schleim aus der Cervix uteri, ca. 10 %ig	45'	0
dsgl., mit $Co(NO_3)_2$, Konz. 0,001 M	45'	0
Vaginalabstrich, ca. 10 %ig	45'	13
Vaginalabstrich, ca. 5 %ig	45'	4
	12^h	26
Fruchtwasser, 100 %ig	12^h	10
Pseudomucinkystom, Cysteninhalt ca. 10 %ig	90'	2
Seröses Kystom, Cysteninhalt, ca. 5 %ig	90 '	8

Untersucht wurde fernerhin eine Decidua von einem Abort (Mens II), deren Aktivität in der Größenordnung der proliferierenden Endometrien liegt. Doch läßt sich dieser Befund nicht verallgemeinern, besonders, da dem Gewebe Blut beigemischt war. Reine Decidua ist auch deshalb schwer zu gewinnen, weil häufig bereits embryonale Gewebsanteile mit ihr vermengt sind.

Die Corpora lutea steigen in ihrer Glycylglycin-spaltenden Aktivität deutlich an, vom frisch gesprungenen Follikel über das Corpus luteum menstruationis bis zum

Corpus luteum graviditatis.

Die Aktivität der Placenten erweist sich dagegen als relativ gering, mit fallender Tendenz bis zur reifen Placenta.

Auffälligerweise rief Schleim aus der Cervix uteri, auch nach Zugabe von Kobaltionen als Aktivator, keinerlei Glycylglycin-Spaltung hervor, während zwei normale Vaginalabstriche deutliche Aktivität zeigten. Das Ferment muß hier also entweder aus abgeschilferten Epithelzellen, oder aus der Scheidenflora stammen.

Wenig aktiv war der Zysteninhalt von zwei Kystomen. Das Fruchtwasser wurde, frisch gewonnen, unverdünnt zum Ansatz gebracht; die verursachte Spaltung war gering.

5.) Leichenorgane.

Die Organteile wurden dankenswerterweise vom Pathologischen Univ.-Institut Erlangen zur Verfügung gestellt. Die Sektion war ca. 36 Stunden post mortem erfolgt; unmittelbar darauf wurden die Gewebe homogenisiert und im Kühlschrank bis zur Durchführung der Versuche ca. 24 Stunden aufbewahrt. Sektionsbefund: 42 - jährige Frau mit multipler Sklerose,

Todesursache: Lungenembolie.

Hier erweist sich das Myometrium als etwas schwächer aktiv als das Endometrium, die Niere als das am stärksten, die Milz als das am schwächsten aktive Organ; doch bedürfen

O r g a n	Spaltung (%) in 120'
Endometrium (proliferierend)	24
Myometrium	20
Leber	30
Niere	37
Milz	16
Pankreas	26

angesichts der Lagerung und unbekannten Haltbarkeit dieser Organfermente die Ergebnisse einer vorsichtigen Beurteilung.

D) D I S K U S S I O N

Die Glycylglycin-spaltende Dipeptidase des menschlichen Endometriums zeigt für Glycylglycinase typische Eigenschaften, wie spezifische Aktivierung durch Co^{++} sowie durch Mn^{++}, Hemmung durch Cystein und Zn^{++} (SMITH[68]). Doch im Gegensatz zu der von SMITH beschriebenen Glycylglycin-Dipeptidase des Rattenskelettmuskels erwies sich die Haltbarkeit des Fermentes aus Endometrium als wesentlich größer. Auch die p_H-Aktivitätskurve zeigt einen abweichenden Verlauf. Dies mag als Hinweis darauf gewertet werden, daß das Ferment "Glycylglycin-Dipeptidase" durchaus kein einheitlicher

chemischer Körper ist. Das erscheint auch gar nicht unwahrscheinlich, wenn man sich vergegenwärtigt, daß nicht nur jede Tierart, sondern sogar jedes Individuum, durch das Erbgut geprägt, und jedes Körpergewebe ein spezifisches, von anderem verschiedenes Eiweiß besitzt. Nun sind aber auch die Enzyme in ihrem Apo-Fermentanteil Eiweißkörper, die zumindest artspezifisch, wahrscheinlich aber auch individual- und organspezifisch geprägt sind. So ist ja bekannt, daß z.B. gegen kristallisierte Rinder-Carboxypeptidase als Antigen in Kaninchen ein Antiserum mit einem spezifischen präzipitierenden Antikörper erzeugt wird [71]. Starke Hinweise auf das Vorkommen verschiedener Glycylglycin-Dipeptidasen in menschlichem Blutserum geben die bereits auf Seite 9 dargelegten Versuchsergebnisse von FLEISHER[22].

Bei der Betrachtung des Diagramms über den Einfluß der Temperatur auf die Hydrolyse fällt auf, daß die Form der Kurve identisch ist mit der für die Diglycylglycin-spaltende Aminopolypeptidase des Serums gefundenen, wie sie STERN und Mitarbeiter [76] veröffentlichten. Offenbar besitzen beide Enzyme Apo-Fermente, welche die gleiche Temperaturempfindlichkeit aufweisen, d.h. bei 60° C zerstört werden.

Bei der Betrachtung der Endometrien aus verschiedenen Phasen des Zyklus fällt auf, daß der Anstieg der enzymatischen Aktivität in der Sekretionsphase in guter Übereinstimmung steht mit den bereits auf S.14 ff. angeführten

Befunden von ROCHE und NATAF [55] (die sich allerdings auf den Gesamtuterus der Ratte beziehen), da ja die Proliferationsphase unter dem Einfluß des Oestradiols, die Sekretionsphase unter der des Progesterons steht. Das heißt also, daß das menschliche Endometrium in seiner dipeptidasischen Aktivität durch Corpus-luteum-Hormon stärker aktiviert wird als durch Follikelhormon. Hierfür spricht auch, daß Endometrien der sehr frühen Sekretionsphase, in der das Corpus luteum sich erst entwickelt, z.T. noch niedrige Aktivität zeigen. Die gegenüber der normalen Proliferation erhöhte Aktivität der glandulär-zystisch-hyperplastischen Endometrien läßt sich als verstärkte Follikelhormonwirkung deuten.—Bei Betrachtung nicht vom hormonalen, sondern vom histologischen Standpunkt aus,läßt sich auch sagen, daß, je mehr Drüsenepithelien vorhanden sind, desto größer die Aktivität ist: Die Drüsen vermehren und schlängeln sich, die Epithelzellen vergrößern sich im Ablauf des normalen Zyklus; Drüsenvermehrung ist auch bei der glandulär-zystischen Hyperplasie vorhanden. Aber auch die Befunde bei malignen Tumoren lassen sich unter diesem Gesichtspunkt einordnen: Die Adeno-Carcinome mit ihrer schrankenlosen Wucherung von Drüsenelementen erweisen sich bezüglich Glycylglycinspaltung als sehr aktiv, während Plattenepithel-Carcinom und Sarkom, solide gebaut und von hohem Eiweiß- bzw. Stickstoffgehalt, auffällig wenig Aktivität entwickeln.

Anscheinend ist sezernierendes Drüsenepithel besonders reich an Peptidasen. LINDERSTRØM-LANG und HOLTER [44] fanden im Magen geringere Aktivität an der Schleimhautoberfläche, hohe in der Tiefe im Bereich der Drüsen, an der Muscularis mucosae aber steilen Abfall. Dem entsprechen völlig die Befunde an der Uterusschleimhaut, womit besonders auf Endometrium H.Nr.839 verwiesen sei.

Endometrium ist relativ reich an Glycylglycin-Dipeptidase im Vergleich zu anderen Organen, wie Placenta und Corpus luteum (das mit zunehmender inkretorischer Funktion auch an dipeptidasischer Aktivität zunimmt). Bei den zuletzt untersuchten Leichenorganen wurde das Endometrium - wiewohl es sich um ein proliferierendes handelte - nur durch die epithelialen parenchymatösen Organe Niere und Leber übertroffen, während die mesenchymale Milz und die glatte Muskulatur des Myometriums weniger Ferment enthalten. An dieser Stelle sei auch angeführt, daß PALMER und LEVY [53] bei Hühnerembryonen im Ektoderm eine dreimal so hohe dipeptidasische Aktivität fanden wie im Mesenchym.

Aus allen diesen Tatsachen ergibt sich, daß die biologische Funktion der Glycylglycin-Dipeptidase im Organismus nicht so sehr zum Wachstum der Gewebe, sondern vielmehr zum Funktionieren der Epithelien in enger Beziehung stehen muß.

D) Z U S A M M E N F A S S U N G .

1.) Die Glycylglycin-Dipeptidase aus menschlichem Endometrium besitzt weitaus größere Haltbarkeit als das entsprechende Ferment aus Rattenskelettmuskel. Die Menge des vorhandenen Fermentes ist direkt proportional der zu beobachtenden Spaltung. Die Hydrolyse folgt der RGT-Regel, hat ihr Maximum bei 45° C; eine Temperatur von 60° C führt zu irreversibler Zerstörung des Enzyms. Die Aktivität in Abhängigkeit von der Wasserstoffionen-Konzentration fällt nur nach der saueren Seite steil ab, nicht im alkalischen Bereich. Die Kinetik zeigt linearen Verlauf der Reaktion bis zu ca. 30 % Spaltung, danach zunehmende Krümmung der Kurve zur Waagrechten (e-Funktion!).

2.) Co^{++} (0,001 M) bewirkt starke Aktivierung, in der zehnfachen Konzentration aber starke Hemmung des Ferments. Auch Mn^{++} aktiviert. Als Hemmstoffe wirken Ni^{++}, Cr^{+++}, UO_2^{++}, Zn^{++}, Cd^{++}, Hg^{++}, Cu^{++}, Ag^{+}, Cystein, Zitrat, Chloroform, in geringem Maße auch Aethanol, Askorbinsäure und Arsensäure.

3.) Im Ablauf des menstruellen Zyklus erfolgt ein Anstieg der dipeptidasischen Aktivität des Endometriums. Die Mittelwerte der Sekretionsphase liegen weit über doppelt so hoch wie die der Proliferationsphase. Desgleichen findet sich Erhöhung bei glandulär-zystischer Hyperplasie und Adeno-Carcinom, doch Erniedrigung bei anderen

Tumoren.

4.) Auch bei Corpus luteum läßt sich ein Enzymanstieg erkennen, bei Placenta das Gegenteil.

5.) Endometrium erweist sich im Vergleich mit anderen Organen als relativ fermentreich.

E) L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S .

1) ABDERHALDEN,E., und REICH: Studien über den Einfluß verschiedener Alkohole u.s.w. -
Fermentforschung 11, S.64 (1929)

2) ABDERHALDEN,E., und E.SCHWAB: Untersuchung des Wirkungsbereichs der während der Autolyse von Organen in Erscheinung tretenden Fermente der Gruppe der Proteinasen und Polypeptidasen. - Fermentforschung 14, S.43 (1933)

3) ABDERHALDEN,R.: Untersuchungen über den Einfluß des Alters, des Geschlechtes und der Ernährungsweise auf die Di- und Polypeptidaseaktivität des Blutserums, des Muskels und der Leber. - Klin.Wschr. 1941 II, S.1010

4) ABDERHALDEN,E., und R.ABDERHALDEN: Untersuchungen über Organ-d-Polypeptidasen und -d-Dipeptidasen. -
Fermentforschung 16, S.445 (1942)

5) ÅGREN,G.: The secretion of aminopolypeptidase from the pyloric and duodenal mucosa of cat after injection of cristalline secretin. -
Ark.Kem., Mineral., Geol. 16 B, Nr.6, S.1 (1943)

6) BALLIN,J.C., R.N.FEINSTEIN, and N.E.WARNER: Clinical evaluation of the blood cell carboxypeptidase inhibitor test for malignant neoplasia. -
Cancer Research 13, S.784 (1953)

7) BARBER,V.T., K.STERN, B.A.ASKONAS, and A.M.CULLEN: Peptidases in human serum. -
Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med.67, S.421 (1948)

8) BARGONI,N.: Attività enzimatica e contenuto di protidi

del fegato.- Boll.soc.ital.Biol.sper. 26, S.942 (1950)

9) BARGONI,N.: Enzymatic activity and protein amounts in the liver. - Experientia (Basel) 7, S.104 (1951)

10) BAYERLE,H.: Malignes Wachstum und d-Peptid-spaltende Enzyme. - Z.Krebsforsch. 52, S.341 (1942)

11) BERGMANN,M., L.ZERVAS, J.S.FRUTON, F.SCHNEIDER, and H.SCHLEICH: On the specifity of dipeptidase. - J.of Biol.Chem.109, S.325 (1935)

12) BIRMINGHAM,M.K., and M.-L.DESBARATS: Changes in oxygen uptake and peptidase activity of the rat thymus during growth and after adrenalectomy. - Canad.J.of Med.Sci.30, S.494 (1952)

13) BRACHET,J.: La composition enzymatique de fragments nucléés et anucléés d'amibes. - Biochim.et biophysica acta (Amsterdam) 14, S.449 (1954)

14) CHEN,Tsi-Tsao: Über die Peptonase- und Dipeptidasewirkung der mit Phosphor, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff oder durch Gallengangsunterbindung geschädigten Kaninchenleber. - Tohoku J.exper.Med.38, S.152 (1940)

15) CULLEN,A.M., V.T.BARBER, M.K.BIRMINGHAM, and K.STERN: Peptidase activity in human serum under various pathological conditions, in pregnancy, and following the administration of ACTH. - Canad.J.of Med.Sci. 23, S.114 (1951)

16) ENGEL,F.L., and T.B.SCHWARTZ: Adrenal cortex and peptidase activity of rat tissue. -

Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med.77, S.615 (1951)

17) v.EULER,H. und K.JOSEPHSON: Enzymatische Spaltung von Dipeptiden. - Z.physiol.Chem. 157, S.122 (1926)

18) FEINSTEIN,R.N., and J.BALLIN: Carboxypeptidase in mammalian tissue. - Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med. 83, S.10 (1953)

19) FEINSTEIN,R.N., and J.BALLIN: Carboxypeptidases and carboxypeptidase inhibitor in tumor-bearing animals. Cancer Res. 13, S.780 (1953)

20) FEINSTEIN,R.N., and J.BALLIN: Effect of whole body x-irradiation on a natural inhibitor of carboxypeptidase. - Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med. 83, S.6 (1953)

21) FISCHER,E. und E.ABDERHALDEN: Über das Verhalten verschiedener Polypeptide gegen Pankreassaft und Magensaft. - Z.physiol.Chem. 46, S.52 (1905)

22) FLEISHER,G.A.: Peptidases in human blood. - J.of Biol.Chem. 205, S.925 (1953)

23) GANGL,E.: Beitrag zum Auftreten von d-Peptidasen im Carcinomserum. - Z.Krebsforschung 52, S.384 (1942)

24) GHOSH,B.N., P.K.DUTT, and D.K.CHOWDHURY: Enzymes in snake venom. - J.Indian chem.Soc. 16, S.75 (1939)

25) GOLD,N.J., and S.H.STURGIS: The comosition of uterine and endometrial nucleic acid. - J.of Biol.Chem. 206, S.51 (1954)

26) GRASSMANN,W., und H.DYCKERHOFF: Über die Proteinase und

die Polypeptidase der Hefe. -
Z.physiol.Chem. 179, S.41 (1928)

27) GRASSMANN,W., und W.HEYDE: Alkalimetrische Mikrobestimmung der Aminosäuren und Peptide. -
Z.physiol.Chem. 183, S.32 (1929)

28) GRASSMANN,W., H.DYCKERHOFF und SCHOENEBECK: Über natürliche Aktivatoren und Hemmungskörper proteolytischer Enzyme. - Z.physiol.Chem. 186, S.183 (1930)

29) GRASSMANN,W., und W.HEYDE: Zur Kenntnis der Peptidasen des Blutserums. - Z.physiol.Chem. 188, S.69 (1930)

30) GRASSMANN,W., W.VOLMER und V.WINDBICHLER: Zur Kenntnis der Dipeptidase. - Biochem.Z. 298, S.8 (1938)

31) HAGERMANN,D.D., and C.A.VILLEE: Effect of estradiol on the metabolism of human emdometrium in vitro. -
J.of Biol.Chem. 203, S.425 (1953)

32) HAGERMANN,D.D., and C.A.VILLEE: Effects of the menstrual cycle on the metabolism of human endometrium. -
Endocrinology 53, S.667 (1953)

33) HANSON,H., und M.WENZEL: Zur Lokalisation der Serumpeptidasen an den Serum-Eiweißfraktionen. -
Klin.Wschr. 1953, S.24

34) HANSON,H., und N.TENDIS: Untersuchungen zur Lokalisation von Peptidasen im Gehirngewebe. -
Ges.Physiol.Chem.; Homburg/Saar 30.Sept.-4.Okt.1953

35) HINSBERG,K., F.BRUNS, W.GEINITZ, W.SCHILD und H.WÜST: Aldolase, Dipeptidase, Tripeptidase u.s.w.... in

Blutserum und Ascitesflüssigkeit von Mäusen mit Ascitestumor. - Z.f.Krebsforschung, 60, S.72 (1954)

36) HOLMANN,H.R., A.WHITE, and J.S.FRUTON: Relation of adrenal cortex to serum peptidase activity. - Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med. 65, S.196 (1947)

37) HOLTER,H., F.E.LEHMANN-BERN und K.LINDERSTRØM-LANG: Aktivierung der Leucylpeptidase von Tubifex-Eiern durch Magnesiumsalze. - Z.physiol.Chem.250, S.237 (1937)

38) HOLTER,H., and S.LØVTRUP: Proteolytic enzymes in Chaos chaos. - Compt.rend.Lab.Carlsberg, Sér.chim. 27, S.27 (1949)

39) JOHNSON,M.J., G.H.JOHNSON, and H.PETERSON: The magnesium-activated leucylpeptidase of animal erepsin. - J.of Biol.Chem. 116, S.515 (1936)

40) KISHI, SANJI, TADASHI FUJIWARA, and WARO NAKAHARA: Comparison of chemical composition between hepatoma and normal liver tissues. Cathepsin, dipeptidase, and tripeptidase. - Gann 32, S.469 (1938)

41) KÖGL,F., und H.EIXLEBEN: Zur Ätiologie der malignen Tumoren: 1.Mitteilung über die Chemie der Tumoren. - Z.physiol.Chem. 258, S.57 (1939)

42) LINDERSTRØM-LANG,K.: Über Darmerepsin.- Z.physiol.Chem. 182, S.151 (1929)

43) LINDERSTRØM-LANG,K.: Über die Einheitlichkeit der Darmdipeptidase. - Z.physiol.Chem. 188, S.48 (1930)

44) LINDERSTRØM-LANG,K.; und H.HOLTER: Über die Verteilung

der Peptidase in der Schleimhaut von Magen und Duodenum des Schweines. - Z.physiol.Chem. 226, S.177 (1934)

45) MASCHMANN,E.: Über Kathepsin und Peptidasen in gesunden und krebskranken Tieren. - Arb.Staatsinst.exper.Ther. Frankf.H.34, S.1 (1937)

46) MASCHMANN,E.: Über substratspezifische Dipeptidasen. - Naturwiss. 1941, S.370

47) MASCHMANN,E.: Über l- und d- Pepdidasen von Organen u.s.w. - Biochem.Z. 313, S.156 (1942)

48) McLAREN,A.D., P.GENTILE, D.C.KIRK jr., and N.A.LEVIN: Inactivation of enzymes with ultraviolett light and photolysis of the peptide bond. - J.Polymer.Sci. 10, S.333 (1953)

49) MERTEN,R., und M.WINSCHUH: l- und d-Dipeptidasen in den Formelementen des menschlichen Blutes. - Z.Vitamin- u.s.w. Forschung (Wien) 1, S.351 (1947)

50) MERTEN,R.: l- und d-Peptidasen in den Formelementen des menschlichen und tierischen Blutes. - Biochem.Z. 318, S.185 (1947)

51) NORBERG,B.: On proteins in regenerating rat liver: Proteolytic enzymes. - Acta physiol.scand.(Stockholm) 20, S.180 (1950)

52) ORECHOWITSCH,W.N.: Die Veränderung der Aktivität der Dipeptidasen in den regenerierenden Geweben von Amphibien - Biochem.Z. 286, S.91 (1936)

53) PALMER,A.H., and M.LEVY: Chemistry of the chick embryo:

Distribution of dipeptidase in the cephalic region of the three day embryo. - J.of Biol.Chem. 136, S.629 (1940)

54) POTTER,V.R., and C.A.ELVEHJEM: A modified method for the study of tissue oxidations. - J.of Biol.Chem. 114, S.495 (1936)

55) ROCHE,J., et B.NATAF: Action d'hormones sexuelles et de la gestation sur diverses activités enzymatiques de l'utérus. - Bull.Sté.Chim.Biol. 36, Nos.6-7, S.799 (1954)

56) SALVIDIO,E., and R.CHELI: Studies on the influence of pituitary hormones on the peptidase, nucleotidase, and acid and alcaline phosphatases of marrow cells in albino rats. - Acta haematol.(Basel) 13, S.352 (1955)

57) SCHNEIDER,F.: Aminopolypeptidase und Apo-Dipeptidase.- Biochem.Z. 308, S.247 (1941)

58) SCHNEIDER,F.: Versuche zur Abtrennung eines co-enzym-artigen Faktors der Hefedipeptidase. - Biochem.Z. 308, S.399 (1941)

59) SCHWARTZ,T.B., and F.L.ENGEL: Effect of adrenocortico-tropic hormone and cortisone therapy on human plasma aminopeptidase activity. - Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med. 74, S.82 (1950)

60) SCHWARTZ,T.B., F.L.ENGEL, and C.C.TOWBIN: Peptidase activity of surviving rat diaphragm. - J.Biol.Chem. 197, S.381 (1952)

61) SCHWARTZ,T.B.: Variations in rat dipeptidase activity following parenteral administration of activator and

inhibitor. - J.of Biol.Chem. 204, S.61 (1953)

62) SCHWARTZ,T.B.: Proteolytic activity and protein catabolism of rat diaphragm in hemorrhagic shock. - Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med. 83, S.362 (1953)

63) SCHWARTZ,T.B., and F.L.ENGEL: Rat plasma amino peptidase activity in hemorrhagic shock. - Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med.83, S.568 (1953)

64) SIEBERT,G.: Eiweißstoffwechsel im Zellkern. - Ges.f.Physiol.Chem.; Mainz 29.-31.Aug.1951

65) SIEBERT,G., K.LANG, L.MÜLLER, S.LUCIUS, E.MÜLLER und E.KÜHLE: Fermente des Aminosäure- und Peptidumsatzes in Zellkernen. - Biochem.Z.323, S.532 (1953)

66) SKOROBAGATOWA,L.I.: Einfluß der Bestrahlung mit einem Quarz-Quecksilber-Brenner auf die proteolytischen Fermente der Gewebe. - Bull.Biol.et Méd.expér. URSS 2, S.194 (1936)

67) SMITH,E.L.; The peptidases of skeletal, heart, and uterine muscle. - J.of Biol.Chem. 173, S.553 (1948)

68) SMITH,E.L.: The glycylglycine dipeptidases of skeletal muscle and human uterus. - J.of Biol.Chem. 173, S.571 (1948)

69) SMITH,E.L.: The mode of action of the metal-peptidases.- Proc.Nat.Acad.Sci.USA 35, S.80 (1949)

70) SMITH,E.L., and R.LUMRY: Some consideration of the interaction of the metal peptidases with their substrates. - Cold Spring Harbour Symp. 14, S.168 (1950)

71) SMITH,E.L., B.V.JAGER, R.LUMRY, and R.R.GLANTZ: Precipitation and inhibition of carboxypeptidase by specific antisera. - J.of Biol.Chem. 199, S.789 (1952)

72) SMITH,E.L., and D.H.SPACKMANN: Leucine aminopeptidase. Activation, specificity, and mechanism of action. - J.of Biol.Chem. 212, S.271 (1955)

73) SPACKMANN,D.H., E.L.SMITH, and D.M.BROWN: Leucine-aminopeptidase. Isolation and properties of the enzyme from swine kidney. - J.of Biol.Chem. 212, S.255 (1955)

74) STERN,K., A.M.CULLEN, and V.T.BARBER: Peptidase activity in human serum following bone fracture.- The J.of Clin.Investig.,Vol.XXVIII, Nr.3, S.419 (1949)

75) STERN,K., A.M.CULLEN, V.T.BARBER, and R.RICHER: Peptidases in the cerebrospinal fluid. - Canad.Med.Ass.J. 63, S.473 (1950)

76) STERN,K., M.K.BIRMINGHAM, A.M.CULLEN, and R.RICHER: Peptidase activity in leucocytes, erythrocytes, and plasma of young, adult, and senile subjects. - The J.of Clin.Investig.,Vol.XXX, Nr.1, S.84 (1951)

77) TALLAN,H.H., M.E.JONES, and J.S.FRUTON: On the proteolytic enzymes of animal tissues. - J.of Biol.Chem. 194, S.793 (1952)

78) TSUCHIYA, JOSHIO: Enzyme chemical investigations of Formosa snake venoms. - Mem.Fac.Sci.a.Agricult.Taihoku Univ.9, S.137 (1936)

79) VESCIA,A., A.ALBANO e A.JACONO: Azione della D-leucina

sulla idrolisi della glicil-L-leucina. -
Boll.Soc.ital.Biol.sper. 26, S.99(1950)

80) VESCIA,A., A.ALBANO e A.JACONO: Die Beziehung der optischen Form von Aminosäuren zur Peptidase-Aktivität in menschlichen normalen Geweben und Tumoren. -
Z.physiol.Chem.293, S.216 (1953)

81) VESCIA,A.: Unterschiede im elektrophoretischen Verhalten von Peptidasen aus normalen und neoplastischen Geweben. - Z.physiol.Chem. 299, S.54 (1955)

82) WALAAS,O., E.WALAAS, F.LÖKEN: Effect of oestradiol monobenzoate on the metabolism of the rat endometrium.-
Acta endocrinol. (Copenh.) 11, S.61 (1952)

83) WALDSCHMIDT-LEITZ und SCHÄFFNER: Zur Spezifität tierischer Proteasen. - Z.physiol.Chem. 151, S.31 (1926)

84) WALDSCHMIDT-LEITZ,E., und A.PURR: Über Proteinase und Carboxy-Polypeptidase aus Pankreas. -
Ber.dtsch.chem.Ges. 62, S.2217 (1929)

L E B E N S L A U F

Am 10. Mai 1933 wurde ich in Dillingen an der Donau geboren als Sohn des praktischen Arztes Dr. med Theodor Ortolf und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Schneider. 1934 starb mein Vater als Opfer seines Berufes. Vier Jahre besuchte ich die Volksschule, dann, ab 1943, die Oberschule für Jungen in Dillingen. 1948 trat ich an das Gymnasium Fridericianum in Erlangen über, das ich am 17. Juli 1952 absolvierte. Im Wintersemester 1952/53 bezog ich die Friedrichs - Alexander - Universität zu Erlangen, an der ich am 28. Februar 1955 die Ärztliche Vorprüfung und am 30. Juni 1958 das Medizinische Staatsexamen mit der Note "sehr gut" bestand.

Die vorliegende Arbeit entstand im Jahre 1956 an der Universitäts-Frauenklinik in Erlangen.

Manfred Ortolf.